N° D'ORDRE
50

THÈSES

PRÉSENTÉES A LA

FACULTÉ DES SCIENCES DE L'UNIVERSITÉ DE BORDEAUX

POUR OBTENIR

LE GRADE DE DOCTEUR ÈS SCIENCES NATURELLES

PAR

LAURE GATET,

Pharmacien

Boursière de la fondation Schutzenberger (1938-1939).

1re Thèse : Recherches biochimiques sur la maturation des fruits.

2me Thèse : Propositions données par la Faculté.

Soutenues le 23 FEV 1940 **1940, devant la Commission d'examen**

Président : MM. DAGUIN,

Examinateurs : DANGEARD, GENEVOIS.

LONS-LE-SAUNIER

IMPRIMERIE ET LITHOGRAPHIE MAURICE DECLUME

1940

Imprimé en France.

N° D'ORDRE
50

THÈSES

PRÉSENTÉES A LA

FACULTÉ DES SCIENCES DE L'UNIVERSITÉ DE BORDEAUX

POUR OBTENIR

LE GRADE DE DOCTEUR ÈS SCIENCES NATURELLES

PAR

LAURE GATET,

Pharmacien
Boursière de la fondation Schutzenberger (1938-1939).

1re Thèse : **Recherches biochimiques sur la maturation des fruits.**

2me Thèse : **Propositions données par la Faculté.**

Soutenues le **1940, devant la Commission d'examen**

Président : MM. DAGUIN,

Examinateurs : DANGEARD,
GENEVOIS.

LONS-LE-SAUNIER
IMPRIMERIE ET LITHOGRAPHIE MAURICE DECLUME

1940

UNIVERSITÉ DE BORDEAUX

FACULTÉ DES SCIENCES

	MM.	
Doyen	MERCIER	Physique générale.
Doyens honoraires.	DUPONT	Professeur à la Faculté des Sciences de Paris.
	CHAINE	Anatomie comparée et Embryogénie.
Professeurs honoraires.	BÉNARD	
	BOUNHIOL	
	DAURE	Recteur de l'Académie de Caen.
	DEVAUX	
	DUPONT	
	GUINCHANT	
	PICART	
	RICHARD	
	CHAINE	
Professeurs	TROUSSET	Mécanique rationnelle.
	MERCIER	Physique générale.
	FEYTAUD	Zoologie et Physiologie animale.
	DAGUIN	Géologie et minéralogie.
	DANGEARD	Botanique.
	GENEVOIS	Physiologie végétale et chimie biologique.
	MILLOUX	Calcul infinitésimal et Analyse supérieure.
	TRUCHET	Chimie organique.
	QUELET	Chimie minérale et Chimie physique.
	BRUS	Chimie.
	BRELOT	Mathématiques générales.
	AVEL	Anatomie comparée et Embryogénie.
	KASTLER	Physique expérimentale.
Maîtres de conférences honoraires	MANVILLE	
	ARRIVAUT	
Maîtres de conférences	GLANGEAUD ...	Minéralogie.
	ROUSSET	Physique.
	DUFRENOY	Botanique.
	WEIL	Zoologie.
Maître de conférence-adjoint ..	DE PUYMALY	
Secrétaire	ARTIGUELONG	

R. UNIV. BIBLIOTHEEK LEIDEN

A MON PÈRE A MA MÈRE

A MON FRÈRE

A MA TANTE

A MES AMIS

PREMIÈRE THÈSE.

Recherches biochimiques sur la maturation des fruits.

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41536523_0093

Recherches biochimiques sur la maturation des fruits.

TABLE DES MATIÈRES.

Pages

Avant-propos 11

BILAN DES ACIDES ORGANIQUES.

I. — Introduction 14

II. — Méthodes employées 15

III. — Evolution des acides organiques 18

1° En fonction de la température et du climat pour un même cépage et une même année.

a) acidité totale.

b) acide malique.

c) acide tartrique.

d) acides non dosés.

Raisins blancs : Cognac 1936-1937-1938.

Raisins rouges : Chateaumeillant, 1936, 1937, 1938.

2° Différences de comportement entre les raisins de deux stations différentes : Cognac - La Grande Ferrade.

3° Différences entre les années 1936-1937-1938 au point de vue bilan des acides organiques.

IV. — Rapports entre l'évolution des acides organiques et l'accumulation des sucres réducteurs..... 42

V. — Conclusion 43

INDICE DE BROME.

I. — Principe de la fixation du Brome sur les polyphénols, flavones et anthocyanes 45

II. — Technique d'étude 46

III. — Comportement des constituants principaux des moûts et des vins vis-à-vis du Brome naissant..... 46

1° acides organiques, acides aminés, amines..... 46

2° aldéhydes vraies, sucres 47

3° alcools 47

IV. — Indice de brome des moûts..... 48

V. — Conclusion 53

POUVOIR REDUCTEUR ET TENEUR EN ACIDE ASCORBIQUE DES JUS DE RAISIN AU COURS DE LEUR EVOLUTION.

I. — Introduction 54

II. — Méthodes employées 54

III. — Etude du pouvoir réducteur des baies de raisins au cours de la période de maturation..... 56

IV. — Conclusion 59

ETUDE DE LA RESPIRATION DES RAISINS.

I. — Méthodes employées 60

II. — Etude de l'intensité respiratoire et du quotient respiratoire 61

A. — Pendant la période de croissance..... 65

B. — Pendant la période de maturation..... 68

1° En fonction de la taille des grains. 68

2° En fonction de la température. 68

3° Intensité respiratoire du grain entier et de la pulpe..... 68

C. — Etude du quotient respiratoire..... 68

III. — Rapport entre O_2 consommé et :

1° *La disparition* de l'acide malique 69

A. Pendant la période de croissance 71

B. Pendant la période de maturation..... 72

2° *L'évolution* de l'acidité libre 73
A. Au cours de la période de croissance.... 74
B. Au cours de la période de maturation.... 74
IV. — Rapport entre les divers stades de la formation et de la maturation de la baie du raisin (définis par respiration et acide malique) et les tampons d'oxydoréduction du milieu 74
A. Pendant la période de croissance 75
B. Pendant la période de maturation..... 82
V. Conclusions 83
Conclusion générale 84
Bibliographie 85

Avant propos.

En 1820 l'Académie des Sciences mettait au concours les questions suivantes :

« Faire l'analyse des jus de fruits aux principales époques de leur accroissement et de leur maturation et même à l'époque de leur blettissement et de leur pourriture.

Comparer entre elles la nature et la quantité des substances que le fruit contiendrait à ces diverses époques.

Examiner avec soin l'influence des agents extérieurs, surtout celle de l'air qui environne les fruits et l'altération qu'il éprouve ».

Dès 1821, deux savants Bérard et Couverchel se présentèrent au concours. Les deux auteurs entreprirent de résoudre uniquement la dernière question. Bérard montra le rôle indispensable de l'oxygène dans la maturation. Couverchel au contraire, sépara nettement la période de croissance où l'oxygène est nécessaire, de la période de maturation où le fruit pourrait se passer d'oxygène. Avant Pasteur, Lechartier et Bellamy, Couverchel montrèrent la formation d'alcool dans les tissus au cours du blettissement.

Les autres questions ne furent que partiellement traitées par les auteurs qui, dans la seconde moitié du XIX^{e} siècle, étudièrent le problème de la maturation des fruits. Frémy reprit les expériences de Bérard et Couverchel. En enduisant les fruits d'un vernis il montra comme Bérard la nécessité de la respiration pour assurer le développement normal du fruit.

D'autres auteurs étudièrent la nature et l'évolution des acides organiques, leur origine, l'accumulation des sucres et des substances minérales dans les différents fruits, pommes, raisins, etc... (Girard et Lindet 1898, Ferré 1927).

La question de la maturation des raisins en particulier, n'a jamais été traitée d'une façon systématique, ni même reprise dans son aspect : évolution des acides organiques, depuis Girard et Lindet. Comme l'a signalé L. Genevois dans un mémoire paru en 1938 : « Formation et évolution biologique des

acides organiques dans les raisins » on ne trouve pas de dosages précis sur les divers acides aux différents stades de l'évolution. Il est donc intéressant d'établir l'évolution biologique des constituants de la baie de raisin au cours de son développement. Les principaux constituants étudiés ici sont, d'une part, les substances phénoliques, tanins et matières colorantes, les acides organiques, les sucres et, d'autre part, les différents tampons d'oxydoréduction contenus dans la baie de raisin.

La dernière partie de ce travail est une étude des échanges gazeux avec l'extérieur. La valeur de ces échanges et la teneur en acide malique aux différents stades du développement permettent de définir le degré de maturation des raisins. On peut alors étudier le rapport entre le degré de maturation, défini par I_{02} et la teneur en acide malique, et les tampons d'oxydoréduction du milieu. Ces expériences permettent d'étudier les variations du rH cellulaire au cours du développement et les transformations que subissent les matières colorantes d'une part, les acides organiques d'autre part. Ces derniers par pertes successives d'hydrogène, se transforment comme c'est le cas pour l'acide tartrique en acide dioxymaléique, dioxytartrique et dioxyfumarique (Genevois et Gay).

Cette étude ne peut épuiser la question de l'évolution biologique de la baie de raisin. Elle a simplement posé quelques problèmes intéressants de physiologie dont certains n'ont été que partiellement résolus à cause de l'extrême complexité des phénomènes de la vie dans les cellules végétales.

Nous laissons de côté la différenciation des divers cépages et leur comportement d'une année à l'autre, ainsi que le métabolisme de l'azote, questions qui ont fait l'objet des travaux récents de E. Peynaud, poursuivis parallèlement aux nôtres, en amicale collaboration. Nous devons à E. Peynaud des méthodes de dosages élégantes et rapides des acides malique et citrique, qui ont énormément facilité notre travail.

M. le Professeur A. Mayer, Professeur d'Histoire Naturelle des Corps Organisés au Collège de France, veut bien nous faire le grand honneur de publier ce mémoire dans les Annales de Physiologie et de Physicochimie biologique. Nous lui en exprimons notre respectueuse gratitude.

M. le Professeur L. Genevois a bien voulu m'accueillir dans son laboratoire et me confier cette étude ; qu'il me permette de lui dire combien je suis fière d'être son élève. Je suis heu-

reuse de lui exprimer mes sentiments les plus sincères de respectueuse et profonde reconnaissance pour les précieux conseils qu'il m'a donnés au cours de ce travail.

Je remercie aussi M. Espil de la grande indulgence dont il a fait preuve à mon égard. Je le remercie des conseils et des encouragements qu'il m'a prodigués et de l'aide précieuse qu'il m'a apportée en me permettant d'appliquer ses méthodes encore inédites. Je suis heureuse de lui exprimer mes sentiments d'affectueuse reconnaissance.

Ce travail a pu être terminé grâce à la générosité de la Fondation Schutzenberger qui m'a fait l'honneur de m'attribuer une bourse pour l'année 1938-1939 et a bien voulu me renouveler sa confiance pour l'année 1939-1940. Je regrette que des événements imprévus ne m'aient pas permis d'accepter cette deuxième bourse.

BILANS DES ACIDES ORGANIQUES.

I. — Introduction.

Les acides organiques ont un rôle prépondérant dans le phénomène de maturation. Les expériences ont été faites sur des raisins provenant de trois stations différentes :

1° Raisins blancs : Sauvignon provenant de la station expérimentale de la Grande Ferrade (1).

Raïsins rouges : Cabernet provenant de la même station.

2° Des raisins provenant de la Station viticole de Cognac : ce sont tous des cépages blancs : St-Emilion et Colombar cultivés au domaine du Parveau (2) à Cognac.

3° Des raisins rouges provenant d'une région du Cher : Chateaumeillant : Gamay du Beaujolais.

Les études ont porté sur trois années 1936-1937-1938. Elles ont eu pour but d'établir le bilan des acides organiques aux différents stades de la maturation et d'étudier pendant cette période l'évolution des acides organiques. De nombreux auteurs, notamment M. Ferré pour le raisin Gamay en Bourgogne, et M. Hugues pour les raisins Aramon et Carignan, à Montpellier, ont publié des courbes de combustion de l'acide malique. En France il n'existe à notre connaissance que le travail de M. Peynaud sur différents cépages de la région bordelaise qui contienne des bilans complets d'acides organiques établis au cours de la maturation.

Dans son mémoire de 1938 « Formation et évolution biologi-

(1) Les raisins Sauvignon et Cabernet proviennent de la Station agronomique de la Grande Ferrade, au Pont de la Maye à 4 km. au sud de Bordeaux. Ils ont été mis à notre disposition, après autorisation du Ministère de l'Agriculture, par M. Souty, directeur de la Station qui a bien voulu nous réserver la récolte d'un certain nombre de pieds et que nous sommes heureux de remercier.

(2) Les raisins St-Emilion et Colombar de Cognac proviennent du domaine du Parveau, ancienne propriété du professeur Millardet, aujourd'hui champ d'expérience de la Station Viticole de Cognac. Les moûts ont été préparés à Cognac et mis à notre disposition par M. Lafon, directeur de la Station viticole de Cognac que nous remercions de son amabilité inépuisable.

que des acides organiques dans le raisin » L. Genevois a fait l'historique de nos connaissances sur la nature et le rôle exact des acides organiques dans la baie de raisin.

Actuellement, E. Peynaud a établi pour les raisins de la région bordelaise que les acides contenus dans les baies de raisin sont les acides malique et tartrique, et en plus faible quantité l'acide citrique pendant la période de maturation. En outre, Mac Nair a signalé dans les raisins la présence d'acide succinique que nous avons trouvé dans les raisins de Cognac et de Chateaumeillant (Cher).

L'origine des acides organiques a fait l'objet de deux hypothèses : les acides organiques de la baie proviennent des feuilles ou bien ils se forment dans la baie. La première hypothèse qui fait de la baie le lieu de destruction des acides semble confirmée par les travaux de Girard et Lindet. Ces auteurs ont montré que la teneur en acides de la baie décroît du centre vers la périphérie. Ceci montre que les acides ne se forment pas dans la baie, car on observerait le phénomène inverse.

II. — Méthodes employées.

1. Dosage de l'acidité libre.

Le dosage de l'acidité libre a été effectué en présence de deux indicateurs différents au moyen d'une solution décinormale de soude. Le premier indicateur employé est la phtaléine du phénol dont la teinte rose apparait à partir de pH = 8,2. Le chiffre trouvé donne l'acidité due aux acides organiques, phosphorique et aux tanins et polyphénols.

On effectue alors un deuxième dosage en prenant comme indicateur la phénol sulfone phtaléine qui vire à pH = 7,3. Ce deuxième chiffre, inférieur au premier donne l'acidité libre due aux acides organiques, à la première fonction de l'acide phosphorique et à la moitié de sa deuxième fonction.

2. Alcalinité des cendres.

Le principe est le suivant : lorsqu'on calcine au rouge sombre l'extrait sec d'un jus de raisin, tous les cations métalliques (sauf NH_4) combinés aux acides organiques sont dans les cendres sous forme de carbonates. On ajoute aux cendres un ex-

cès d'acide azotique N/10 qui dissout les carbonates. On dose l'excès d'acidité avec une solution de soude N/10. On connaît ainsi la quantité d'acide nitrique combiné. Ce chiffre permet de calculer l'alcalinité des cendres qui s'exprime en milliéquivalents d'acide par litre.

3. Acides organiques totaux.

Le chiffre représentant la quantité totale d'acides organiques libres et salifiés est donné par la somme : acidité libre + alcalinité.

Pour qu'un bilan soit correct il faut que ce chiffre soit égal à la somme des acides malique, citrique, tartrique et autres dosés séparément.

4. Acide tartrique.

De nombreuses méthodes ont été proposées pour le dosage de l'acide tartrique : Méthode de Pasteur-Reboul, basée sur la précipitation de l'acide tartrique sous forme de bitartrate de K ; Méthode de Kling ou méthode au racémate de Ca.

Nous avons employé la méthode décrite par Fresenius. Elle a l'avantage d'être très simple. Nous avons pu, grâce à l'amabilité de M. Peynaud, vérifier que cette méthode était correcte. On trouve les mêmes chiffres que ceux qu'a trouvés E. Peynaud par la méthode au racémate de Ca.

Technique. — 25 cm^3 de jus de raisin sont additionnés de 25 cm^3 d'alcool absolu. On ajoute 5 cm^3 d'un tampon acide acétique/acétate de K 4/N en acide acétique total qui amène le milieu à pH = 4. On ajoute 10 cm^3 de solution saturée de bromure de K. On amorce la cristallisation en frottant les parois du verre avec une baguette de verre. On laisse reposer 24 heures au minimum. On filtre et on lave le précipité avec de l'alcool à 50°. Le précipité est dissous dans de l'eau bouillante et après refroidissement la solution acide de bitartrate est dosée par une solution de NaOH N/10. On établit à l'aide d'un moût synthétique le coefficient d'erreur dû à la solubilité du bitartrate de K.

5. Acide malique.

Pour le dosage de l'acide malique, nous avons suivi intégralement la méthode de M. Peynaud basée sur l'oxydation de l'acide malique en acétaldéhyde avec du permanganate en solution N/500 en présence d'un tampon phosphaté à pH = 3,2.

6. Acide succinique.

Le dosage de l'acide succinique est basé sur les deux principes suivants :

a) L'acide succinique est précipité quantitativement sous forme de succinate de Ba en milieu alcoolique à 80°.

b) Alors que les acides alcools tartrique et malique sont oxydés en CO_2 et H_2O l'acide succinique n'est pas touché par le permanganate en milieu alcalin.

La technique est la suivante : 10 cm³ de moût sont additionnés de 5 cm³ d'une solution saturée d'acétate de Ba. On ajoute la quantité d'alcool suffisante pour que le titre du mélange soit 80°. On laisse précipiter quatre à cinq heures à la glacière. Le précipité est recueilli par centrifugation, on le lave avec de l'alcool à 80° saturé de succinate de Ba. On le traite par 10 à 20 cm³ d'une solution d'acide sulfurique N/10 chaude (La quantité d'acide sulfurique dépend de la quantité totale d'acides organiques contenue dans le moût). On ajoute de l'eau chaude pour dissoudre les acides organiques libérés, le SO_4Ba se dépose, on centrifuge plusieurs fois en recueillant le liquide. Le liquide est alcalinisé à l'aide de quelques gouttes de NaOH 4 N jusqu'à virage du tournesol au bleu. On porte à l'ébullition et on ajoute la quantité théorique de MnO_4K nécessaire pour oxyder complètement les acides tartrique, malique et citrique. On ajoute un léger excès de MnO_4K. Quand le liquide reste rose on ajoute quelques gouttes d'H_2O_2 pour décomposer l'excès de MnO_4K. On filtre pour éliminer l'hydrate de Mn qui a précipité. On a une solution contenant de l'acide succinique et de l'acide sulfurique sous forme de sels de Na. On ajoute dans ce liquide, à l'ébullition, 10 cm³ d'eau de baryte. Le SO_4Ba insoluble dans l'eau, précipite, le succinate de Ba reste en solution. On centrifuge le liquide, on élimine l'excès de baryte par un courant de CO_2, CO_3Ba précipite, on centrifuge à nouveau, le liquide est concentré à 10

cm^3 par ébullition. On ajoute alors une quantité d'alcool suffisante pour que le milieu soit à 80°. Le succinate de Ba précipite seul en quelques heures à la glacière. On centrifuge, on lave le précipité et on le pèse après dessication.

7. Dosage du glucose et du sucre interverti.

Les sucres réducteurs ont été dosés par la méthode de Fehling sur des solutions du moût dilué au 1/10 ou au 1/5 suivant la période étudiée.

8. Conservation des moûts.

Sauf sur les raisins de la Grande Ferrade qui ont été étudiés sur place les autres moûts ont été conservés en les diluant de leur volume d'alcool. Cette méthode a l'avantage de permettre une précipitation préalable des pectines.

Il y a un inconvénient : on voit diminuer l'acidité libre en fonction de l'âge du moût. Cette diminution est due à l'estérification progressive des acides par l'alcool. En effet, la quantité d'esters formés au bout de X mois correspond à la diminution de l'acidité libre.

III. — Evolution des acides organiques.

Les expériences ont porté sur les années 1936-1937-1938. Nous allons étudier successivement les courbes établies pour chaque station et nous essayerons ensuite d'en tirer des conclusions. Tous les chiffres se rapportent à la période de maturation, sauf dans le cas des raisins de Cognac étudiés en 1938, où les chiffres vont du 30 juillet à la fin d'octobre.

A. — Station viticole de Cognac.

Année 1936. — Pendant l'année 1936, les courbes montrent, comme les données classiques le laissaient prévoir :

1° Pour les deux cépages Colombar et St-Emilion ; à partir du 8 septembre, une diminution de l'acidité libre et de la somme des acides organiques alors que l'alcalinité reste contante.

2° L'acide malique diminue lentement, mais le 28 octobre,

date des vendanges, la teneur en acide malique est encore très élevée. La vitesse de combustion est très faible pour les deux cépages.

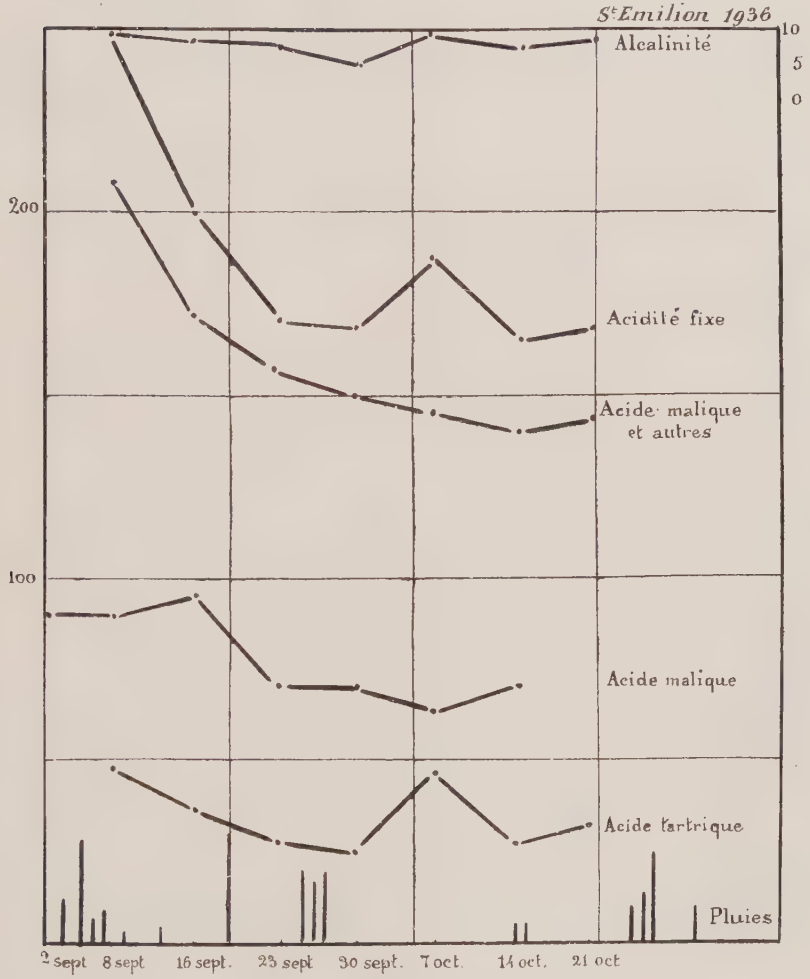

FIGURE 1.

Maturation du raisin St-Emilion de la station viticole de Cognac en 1936. Tous les chiffres sont donnés en milliéquivalents par litre de moût.

3° Quant à la courbe de la teneur en acide tartrique, elle surprend au premier abord. En effet les données classiques disent que l'acide tartrique ne varie pas au cours de la ma-

turation. Or, on constate une teneur minima en acide tartrique le 30 septembre, et une augmentation très nette ensuite de la teneur en acide tartrique. Si on porte sur les graphiques

FIGURE 2.

Maturation du raisin Colombar de la station viticole de Cognac en 1936. Tous les chiffres sont donnés en milliéquivalents par litre de moût.

les hauteurs de pluie on constate qu'il y a une période de sécheresse allant du 28 septembre au 14 octobre. Il est vraisemblable que le grain s'est desséché. A la perte en eau cor-

respond une concentration en acide tartrique. Le St-Emilion est plus sensible à ces variations. Le Colombar au contraire réagit lentement.

Entre le 23 et le 30 septembre on constate une diminution de la teneur en acide tartrique, les chiffres étant rapportés au litre de moût. Cette diminution coïncide avec une période de fortes pluies. L'acide tartrique a été dilué par les apports d'eau dans la baie de raisin.

4. On remarque un déficit important dans le bilan des acides. Il y a donc d'autres acides que les acides tartrique, citrique et malique. On peut envisager la présence d'acide succinique qui semble être un produit constant dans les tissus animaux et végétaux.

Année 1937. — Pendant l'année 1937 qui fut pour la région de Cognac une année exceptionnellement chaude, la période de maturation s'étend du 25 août au 13 octobre. Nous avons pu établir pour cette année, outre les teneurs en acides par litre de jus, l'évolution des acides en fonction de la taille des grains. Les résultats obtenus sur le cépage St-Emilion, seul étudié en 1937, sont les suivants :

a) Comme pour l'année 1936 on retrouve le phénomène très général de diminution de l'acidité totale alors que l'alcalinité des cendres ne subit pas de variations notables. Cette diminution est d'ailleurs très rapide jusqu'au 8 septembre pour ensuite devenir très lente jusqu'à fin septembre. Cette diminution brusque de la première période est en relation avec une combustion également très rapide de l'acide malique et même une diminution de la teneur en acide tartrique.

b) La courbe de la teneur en acide malique montre une diminution rapide de l'acide malique qui diminue de plus de 50 p. 100 pendant la première période de la maturation. A partir du 15 septembre la teneur en acide malique d'un grain reste stationnaire.

En examinant côte à côte la courbe de la teneur en acide malique et la courbe des maxima de température pour la région de Cognac, on peut facilement expliquer la différence entre les vitesses de disparition de l'acide malique pendant la période allant du 25 août au 8 septembre et pendant la période allant du 8 septembre au 6 octobre.

Pendant la première période aucune pluie n'est tombée et

les températures maxima ont dépassé très souvent 30°, température à laquelle brûle l'acide malique.

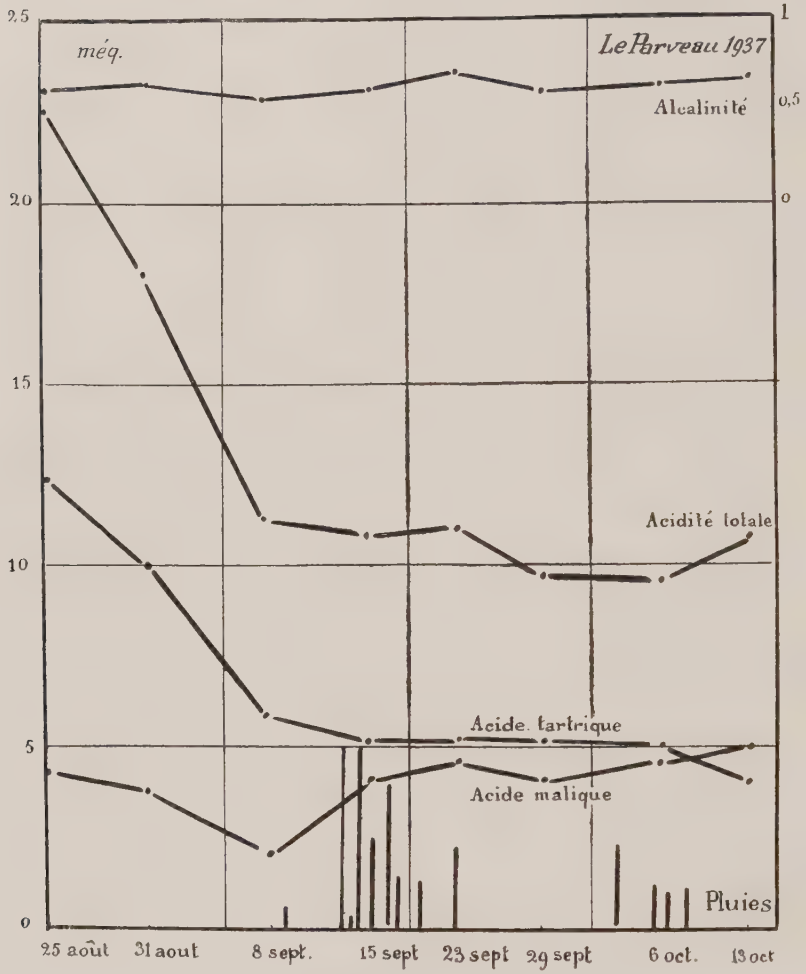

FIGURE 3.

Disparition ou formation des acides rapportée au grain de raisin, en fin de saison.

Raisin St-Emilion de la station viticole de Cognac en 1937, Domaine du Parveau.

Tous les chiffres sont donnés en milliéquivalents pour 100 grains.

Les dénominations « acide malique » et « acide tartrique » sont à *intervertir*, il y a plus d'acide malique que d'acide tartrique. Noter que l'alcalinité est portée avec une échelle multipliée par 5, et décalée vers le haut, indiquée en haut à droite.

Au contraire, entre le 8 septembre et le 28 septembre la hauteur des pluies est assez importante. La température accuse des maxima voisins de 20° et des minima souvent inférieurs à 10°. La combustion de l'acide malique a été arrêtée d'une manière définitive puisque, lorsque vers le 28 octobre la température remonte jusqu'à un maximum de 28°, on ne constate aucune disparition de l'acide malique.

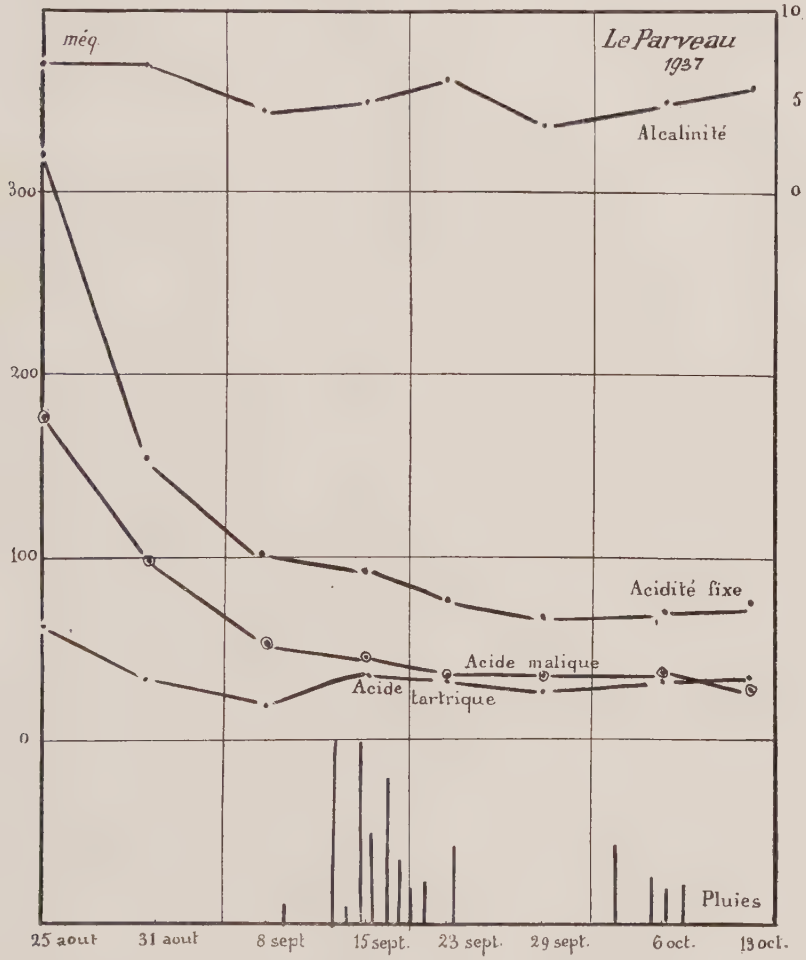

FIGURE 4.

Evolution de la concentration des acides et des bases en fin de maturation 1937.

Raisin St-Emilion de la station viticole de Cognac en 1937. Domaine du Parveau

Tous les chiffres sont donnés en milliéquivalents par litre de moût.

Des expériences faites au laboratoire sur des baies isolées du pied ont montré que dans ces conditions, même à 15° et 18°, la baie de raisin était capable de brûler son acide malique. C'est ce qui explique d'ailleurs pourquoi, au cours des mois de septembre froids comme en 1936, où la température maxima atteint rarement et ne dépasse jamais 30°, on constate tout de même une combustion de l'acide malique. Le phénomène que nous venons de décrire pour la période allant du 8 au 28 septembre 1937 est un peu différent. Ici toute la plante a eu à subir un brusque abaissement de température et l'effet de pluies assez importantes qui ont diminué les échanges respiratoires. L'abaissement brusque de température a diminué l'intensité du ferment respiratoire.

c) De même que pour l'acide malique on peut diviser la courbe de la teneur en acide tartrique en deux parties : la première allant du 25 août au 8 septembre, la seconde allant du 8 septembre au 13 octobre.

Dans la première partie on constate une diminution importante, 50 p. 100 de la teneur initiale de la quantité d'acide tartrique. Il a été brûlé tout comme l'acide malique. Cette période est caractérisée par une sécheresse très grande et par une température élevée. On a noté en effet des maxima de 32°. Ces deux phénomènes, température élevée et grande sécheresse ont provoqué une augmentation de l'intensité respiratoire et ont eu comme conséquence la combustion d'une assez grande quantité d'acide tartrique. Ce phénomène de combustion de l'acide tartrique, rare à Cognac où on observe rarement des températures maxima supérieures à 30°, a été observé la même année par M. Peynaud à la Grande Ferrade, sur différents cépages rouges et blancs.

Dans la deuxième période, on observe une augmentation brusque de la teneur en acide tartrique. Cette augmentation correspond à une période de pluies importantes. Il se produit un brusque apport en acide tartrique. L'acidité totale augmente légèrement ainsi que l'alcalinité, alors que l'acidité libre ne varie pas. A partir du 23 septembre jusqu'aux vendanges on n'observe plus de variations brusques de la teneur en acide tartrique.

Il est à remarquer que nous constatons ici le phénomène inverse de celui que nous avions décrit pour l'année 1936. Nous avions en effet montré que l'acide tartrique diminue

par suite du gonflement du grain pendant la période de pluie, il augmente au contraire pendant la période de sécheresse. En effet pendant l'année 1936 nous n'avons pas enregistré de températures supérieures à 30°, l'acide tartrique n'a pas été brûlé. S'il a été brûlé en faible quantité, la disparition a été compensée par un léger apport en acide tartrique venu de la plante.

Au contraire, sous l'action de la température et de la sécheresse, l'acide tartrique a été brûlé et les apports en acide de la plante ont été insuffisants à combler le déficit pendant la période de sécheresse. La chute importante de pluie a déclanché un apport massif d'acide tartrique dans la baie.

d) Cette année de maturation anormale pour l'acide tartrique se différencie aussi de l'année 1936 lorsqu'on étudie le déficit trouvé dans l'établissement du bilan des acides organiques. Il est un fait important pour les cépages de St-Emilion cultivés à Cognac. A partir du 29 septembre la somme des acides tartrique + malique + citrique est égale à la somme des acides organiques à 5 méq. près. Cet écart de 5 méq. est dû probablement aux phénols et à l'acide phosphorique puisque l'acidité libre a été dosée en présence de phénolphtaléine seulement.

Donc en 1937 à la fin de la maturation comme cela se produit chaque année pour les raisins de la région bordelaise les seuls acides organiques contenus dans la baie de raisin sont les acides malique, tartrique et citrique.

Année 1938. — Les vignes ayant gelé au mois d'avril 1938, nous avons établi pour l'année 1938, les bilans des acides organiques pour des vignes gelées et non gelées.

1° *Cas des vignes non gelées.*

Nous avons pu, cette année, établir le bilan des acides dès le 30 juillet. Nous aurons donc à considérer deux grandes périodes :

a) du 30 juillet à la véraison : période de fin de croissance.

b) de la véraison à fin octobre : période de maturation proprement dite. Les expériences ont porté, comme les années précédentes sur les raisins St-Emilion du domaine du Parveau à Cognac.

I. L'acidité totale et l'acidité libre augmentent pendant la période de croissance assez régulièrement jusqu'au début de septembre. Ensuite elles diminuent régulièrement pendant la période de maturation. L'alcalinité des cendres augmente jusqu'au 21 septembre, puis reste ensuite à peu près constante.

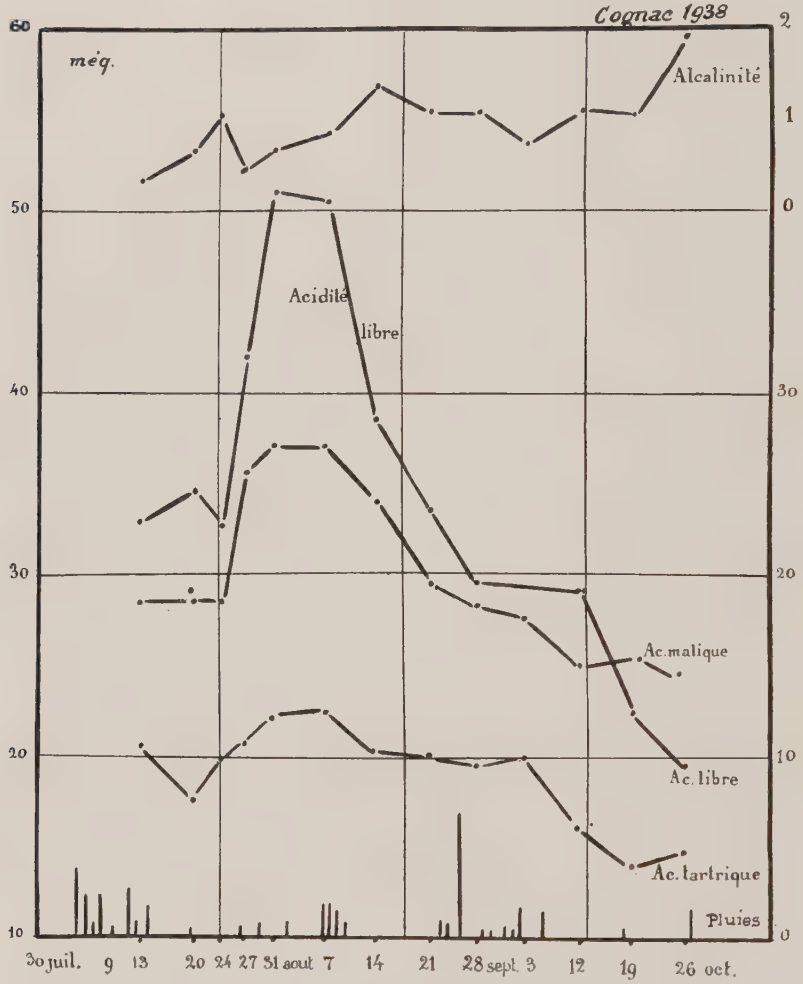

FIGURE 5.

Formation et disparition des acides organiques, rapportés au grain, au cours de l'été 1938.

Raisin St-Emilion de la Station Viticole de Cognac en 1938.

Vignes non atteintes par la gelée. Tous les chiffres sont donnés en milliéquivalents pour 100 grains.

II. La courbe de la teneur en acide malique augmente jusqu'au début de septembre (7 septembre) et diminue ensuite lentement jusqu'au 28 octobre, date des vendanges, 50 p. 100 seulement de l'acide malique est brûlé.

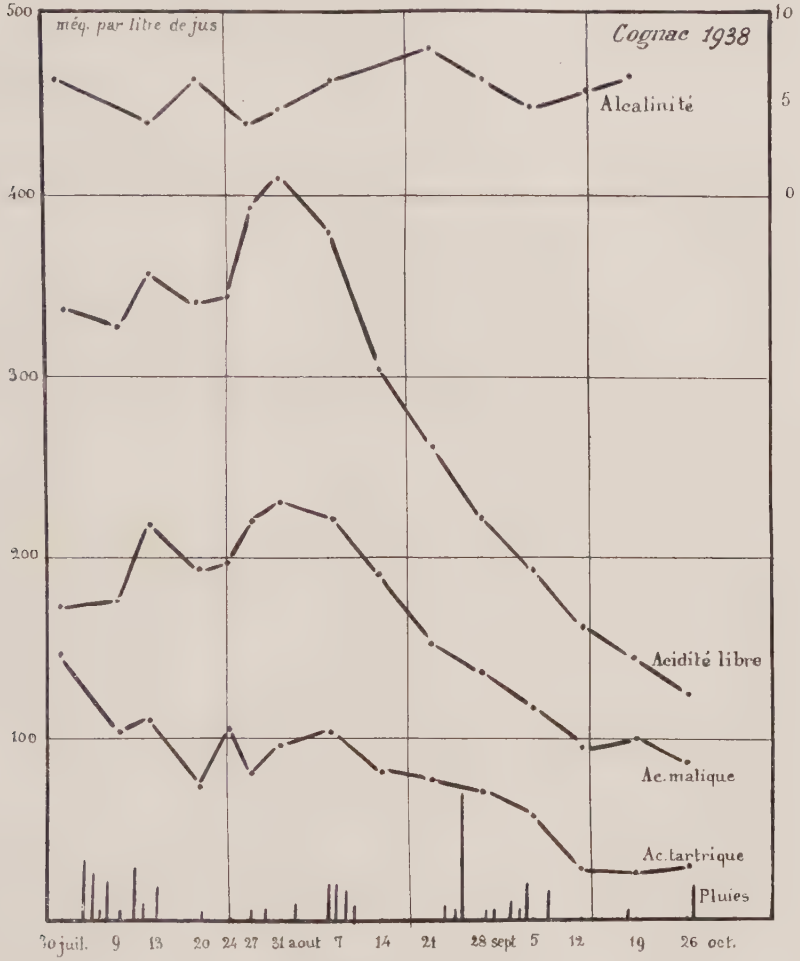

FIGURE 6.

Evolution de la concentration des acides organiques au cours de l'été 1938.

Raisin St-Emilion de la Station Viticole de Cognac.

Vignes non atteintes par la gelée. Tous les chiffres sont données en milliéquivalents par litre de moût.

L'évolution de l'acide malique est donc la suivante :

I. Au cours de la période de croissance la quantité d'acide malique apportée à la baie est supérieure à la quantité brûlée.

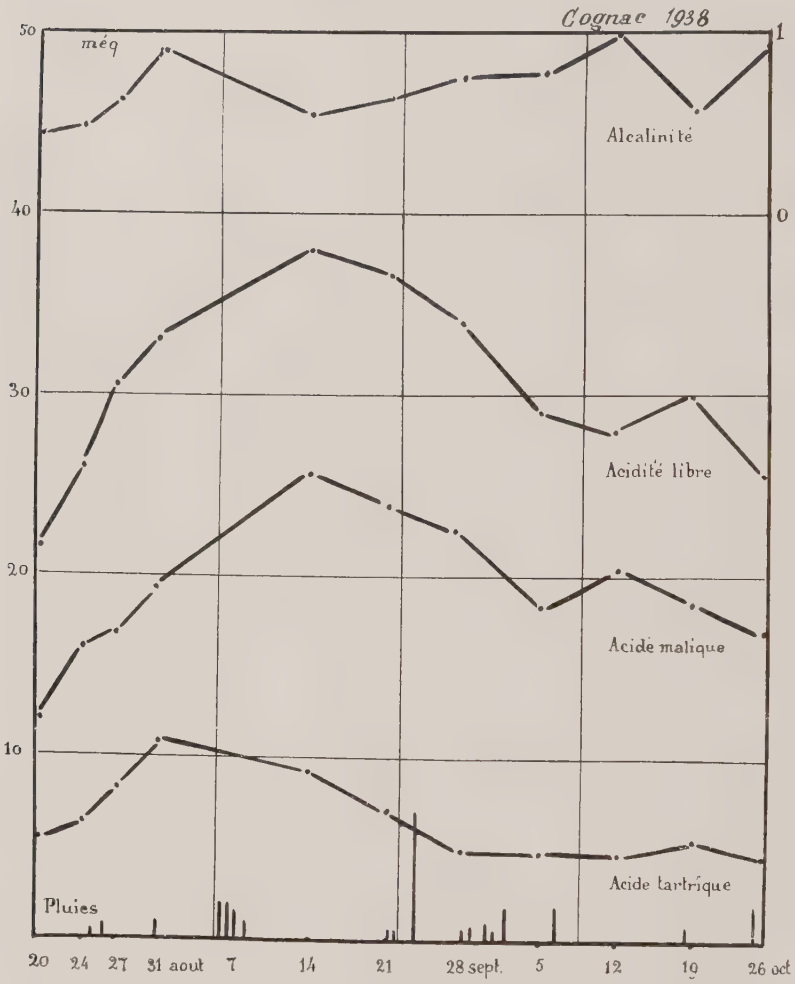

FIGURE 7.

Formation et disparition des acides organiques, rapportées au grain, dans les vignes gelées en 1938.

Maturation du raisin St-Emilion de la Station Vitivole de Cognac en 1938.

Vignes ayant gelé au printemps 1938. Tous les chiffres sont donnés en milliéquivalents pour 100 grains.

II. Au cours de la période de maturation le phénomène inverse se produit : l'apport d'acide malique est faible, au contraire une grande quantité d'acide malique est brûlée.

La vitesse de combustion de l'acide malique dépend de la température. Dans les expériences faites en 1938, nous constatons que nous avons des courbes du type de celles de 1936. On n'a pas enregistré pendant l'année 1938 de températures supérieures à 30°. L'acide malique n'a été que très partiellement brûlé. D'une manière générale, les raisins de la région de Cognac, malgré des vendanges tardives, peuvent être considérés comme des raisins brûlant mal leur acide malique. Ils conservent toujours une teneur élevée en acide malique.

III. La teneur en acide tartrique du grain de raisin augmente, comme pour l'acide malique jusqu'au début de septembre, pendant la période de croissance. Ensuite les chiffres ne varient pas entre le 14 septembre et le 5 octobre. A cette date on assiste à une chute brusque de la teneur en acide tartrique qui correspond à une période de sécheresse du 5 au 19 octobre. On retrouve ici le phénomène décrit à propos du St-Emilion étudié en 1937 pendant la période de sécheresse, fin août-début septembre.

IV. En étudiant le bilan des acides organiques, on constate comme en 1936 un déficit important. La quantité d'acides non dosée donnerait une courbe analogue aux autres : augmentation jusqu'au début de septembre, diminution ensuite jusqu'à fin octobre. Comme en 1936, il reste jusqu'à la fin de la maturation un ou des acides autres que les acides malique, tartrique, citrique. L'acidité libre ayant été dosée en présence de phénolsulfonephtaléine, les phénols n'interviennent pas ici dans l'établissement des bilans.

Ce n'est qu'à partir du 19 octobre que l'on constate que la somme des acides organiques dosés en présence de phénolsulfonephtaléine à pH = 7,4 correspond à la somme des acides tartrique, malique et citrique.

2° *Cas des vignes gelées.*

Les raisins que nous allons étudier maintenant proviennent de vignes ayant gelé au mois d'avril. Il s'agit toujours du cépage St-Emilion du domaine du Parveau, à Cognac. Comme pour les vignes non gelées, nous avons deux périodes à considérer :

a) période de fin de croissance du 30 juillet au début de septembre,

b) période de maturation : septembre-octobre.

L'acidité libre et l'acidité totale, comme dans le cas précédent augmentent jusqu'à la fin d'août pour diminuer ensuite au cours de la maturation. On ne trouve pas de différence importante avec les raisins non gelés pendant la période de croissance. Au contraire, dès le 14 septembre on constate un retard important dans la diminution de l'acidité. Nous verrons que c'est l'acide malique qui est responsable du chiffre élevé trouvé pour l'acidité totale. On ne constate pas de différences notables dans l'alcalinité des cendres entre les deux séries d'expériences.

Pendant la période de croissance l'acide malique augmente. Son accumulation est sensiblement la même dans les deux cas. Au contraire, pendant la période de maturation, les baies provenant de vignes gelées brûlent très mal leur acide malique. Alors que la teneur en acide malique reste constante à partir du 12 octobre pour les vignes intactes, l'acide malique, dans le cas des vignes gelées, diminue lentement jusqu'au 26 octobre date à laquelle on trouve un chiffre légèrement supérieur au premier.

Cet exemple de combustion de l'acide malique montre que toute la vie d'une plante se ressent des perturbations qui lui ont été causées au premier stade de son développement qu'il s'agisse d'une mauvaise nutrition, d'une carence en aliments indispensables ou de mauvaises conditions atmosphériques. « Il faut donner aux plantes une jeunesse heureuse » (P. Chouard).

La courbe de variation de l'acide tartrique ne présente pas de différences systématiques avec celle des vignes non gelées. Comme pour ces dernière on constate une diminution de la teneur en acide tartrique du 14 septembre au 5 octobre due à la sécheresse.

Comme nous l'avons constaté les bilans établis pour les vignes gelées sont en déficit. On constate un déficit de 30 à 40 méq. en calculant l'acidité libre dosée en présence de phénolsulfonephtaléine. Cette différence n'est jamais nulle comme on peut le constater dans le cas des vignes n'ayant pas souffert de la gelée à partir du 19 octobre. Non seulement

l'acide malique a été mal brûlé, mais encore il reste une certaine quantité d'acide que nous supposons être de l'acide succinique qui n'a pas disparu comme c'est le cas lorsque les conditions sont favorables.

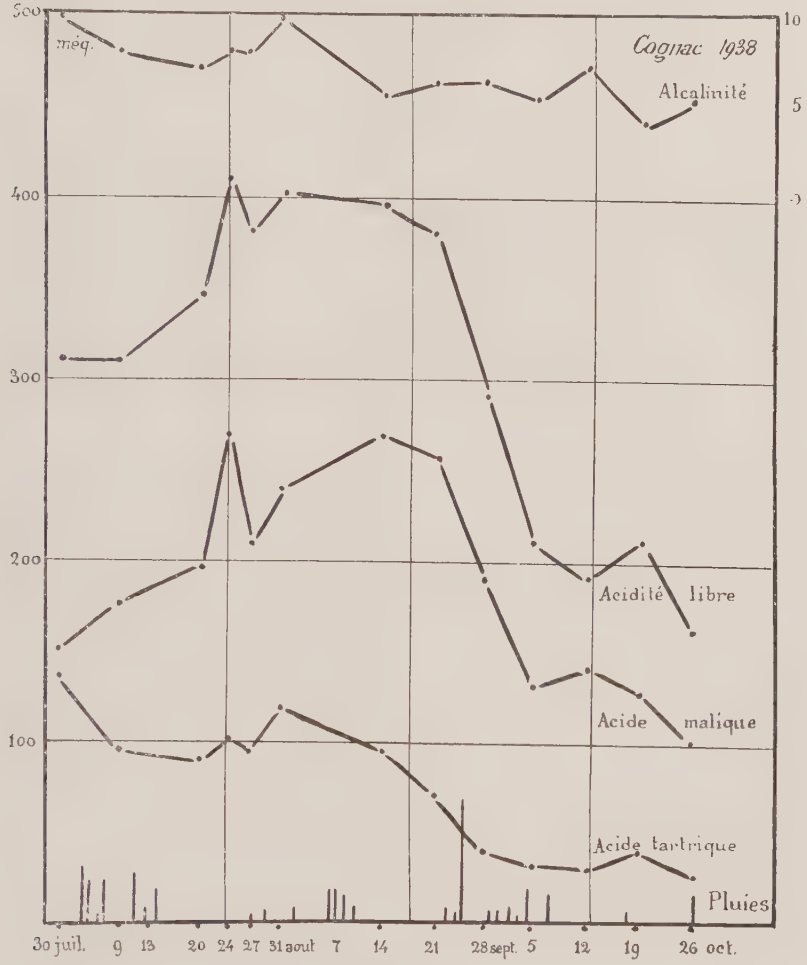

FIGURE 8.

Concentration des acides organiques dans les vignes gelées en 1938. Raisin St-Emilion de la Station Viticole de Cognac en 1938.

Vignes ayant gelé au printemps 1938. Tous les chiffres sont donnés en milliéquivalents par litre de moût.

En résumé on a trouvé deux différences importantes entre les vignes ayant gelé et les vignes intactes.

1° Les vignes gelées brûlent mal et très lentement leur acide malique dont la teneur est toujours supérieure à celle des vignes intactes.

2° Même à la fin de la maturation on constate un déficit important dans l'établissement du bilan des acides organiques dans le cas où l'acidité est dosée en présence de phénolsulfonephtaléine.

B. — Station de la Grande Ferrade.

M. Peynaud ayant publié en 1937 les résultats d'une étude sur la maturation des cépages fins du Bordelais, nous avons constaté que tous les bilans établis par lui s'accordaient. En face de ces résultats nous nous sommes demandé si les dif-

TABLEAU I.

Méq. par litre de jus.

	Septembre				Octobre
	8	12	20	26	4
Sauvignon					
Acidité libre phtaléine	123	105	116	106	
Acidité libre phénolsulfonepht.	102	74	88	76	
Acides org. totaux phtaléine	135	114,6	122	114,8	
Acides org. totaux phénolsulfonepht	114	83	96	84,6	
Alcalinité	12	9,6	8	8,8	
Acide malique	70	50	53	47	
Acide tartrique	40	44	37	40,3	
Acides non dosés autres que T+M+C	0	— 8	+ 6	— 1,3	
Acides neutralisés entre pH 7,4 et 8,2	21	31,6	26	30	
Cabernet					
Acidité libre phtaléine		161	130	108	102
Acidité libre phénolsulfonepht.		122	102	80	72
Alcalinité		12	8	8	12
Acides org. totaux phtaléine		173	138	116	114
Acides org. totaux phénolsulfonepht		144	110	88	84
Acide malique		90	74	65	50
Acide tartrique		57	37	27	31
Acides non dosés autres que T+M+C		0	0	— 4	+ 3
Acides neutralisés entre pH 7,5 et 8,2		39	28	28	30

férences entre les résultats de M. Peynaud et les nôtres étaient dues à des erreurs de notre part ou à des différences systématiques de comportement entre les cépages de la région bordelaise et ceux de la région de Cognac. Pour cela pendant le mois de septembre 1938 nous avons établi le bilan des acides organiques pour des raisins de même cépage et provenant de la même station que ceux qu'étudie M. Peynaud. Nous avons étudié un cépage blanc : le Sauvignon et un cépage rouge : le Cabernet franc. Les expériences ont été effectuées pendant la dernière partie de la période de maturation du 8 septembre au 4 octobre.

1° La courbe relative à l'acidité libre et à la somme des acides organiques montre que dès le 12 septembre pour le Sauvignon la somme des acides reste constante. Le Cabernet se comporte un peu différemment. Son acidité totale décroît jusqu'au 4 octobre, date des vendanges.

Pour les deux cépages, l'alcalinité des cendres reste constante.

2° L'acide malique a été mal brûlé en 1938 par les deux cépages probablement en raison des basses températures enregistrées en septembre. On a constaté une teneur de 47 milliéquivalents par litre de jus pour le Sauvignon à la fin de septembre. La teneur en acide malique du Cabernet était de 50 milliéquivalents le 4 octobre.

3° L'acide tartrique n'a pas varié dans le cas du Sauvignon. On observe, chez le Cabernet, une diminution assez nette entre le 12 et le 26 septembre qui doit correspondre à une dilution due au gonflement des grains sous l'action de pluies abondantes.

4° Si on considère maintenant le bilan des acides organiques on constate qu'il s'accorde dans tous les cas à moins de 5 p. 100 comme l'avait signalé M. Peynaud. La teneur en acides dosés entre pH 7,5 et 8,3 est voisine de 30 milliéquivalents. Elle est due en partie à la deuxième acidité de l'acide phosphorique et aux polyphénols présents dans le jus de raisin. Cette expérience nous permet de conclure que les différences observées pour les moûts de Cognac correspondent à une réalité physiologique. D'ailleurs pour confirmer l'expérience précédente, M. Peynaud a bien voulu effectuer quelques expériences sur des moûts de Cognac de 1938. Il a trou-

vé lui aussi un déficit dans les bilans et ses résultats confirment entièrement les nôtres. Nous tenons à le remercier d'avoir bien voulu nous aider à démontrer que les anomalies rencontrées à propos des moûts de Cognac n'étaient pas dues comme nous l'avons cru longtemps à des erreurs de technique.

C. — Station de Chateaumeillant (Cher).

Après avoir étudié des raisins cultivés en Charente, puis dans la région bordelaise, nous avons étudié des raisins rouges provenant d'une région qui, au point de vue géographique, est la limite entre le Massif Central et le Bassin Parisien.

Les expériences ont porté sur les années 1936, 1937 et 1938. La date de la véraison dans cette région se place entre le 25 et le 30 août pour les années 1936 et 1938. L'année 1937 fut une année exceptionnelle où la période de maturation s'étendit du 20 août au 25 septembre.

Année 1936. — Pendant l'année 1936, la période de maturation s'étend du début de septembre au 10 octobre, date des vendanges dans la région. Les vignes ont eu à subir de fortes gelées entre le 25 septembre et le 3 octobre. Les feuilles ont été complètement desséchées par la gelée et à partir du 1er octobre, les baies de raisin n'ont plus rien reçu du reste de la plante.

1° Les acides organiques ont diminué progressivement pendant la période de maturation jusqu'au 3 octobre. On remarque ensuite une légère augmentation qui doit être due à une concentration des acides dans le grain du fait de la perte d'eau, le grain étant, du fait des gelées, complètement isolé de la plante. L'alcalinité croît légèrement dans la première période pour rester ensuite rigoureusement constante. Les chiffres d'acidité volatile portés sur les tableaux indiquent les quantités d'acide acétique apportées par l'alcool qui a servi à la conservation des moûts.

2° L'acide malique a été assez bien brûlé, surtout pendant la première période de la maturation. Ces raisins, comme ceux de Cognac conservent des teneurs en acide malique élevées — environ 50 milliquivalents — jusqu'à maturité complète.

3° On constate que les teneurs en acide tartrique diminuent pendant la période de maturation. Malheureusement les poids des grains et le volume de jus donné par 100 grains

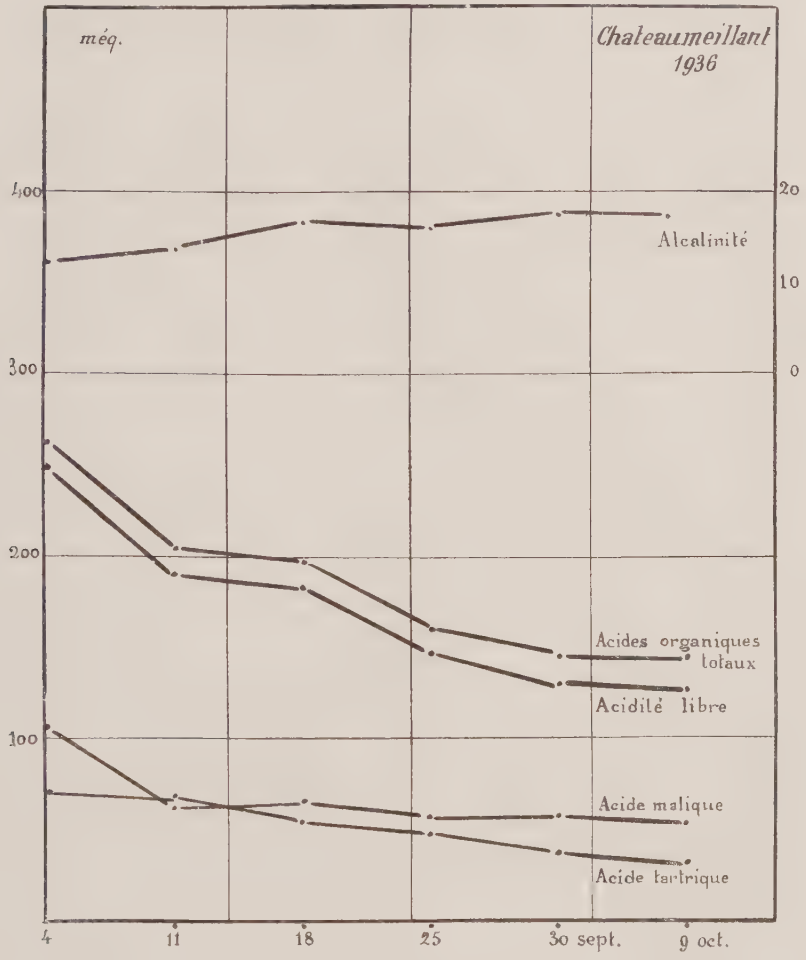

FIGURE 9.

Maturation du raisin rouge de la Station de Chateaumeillant (Cher) en 1936.
Tous les chiffres sont donnés en milliéquivalents par litre de moût.

n'ayant pas été calculés nous ne pouvons faire que des hypothèses. L'acide tartrique diminue par suite de sa dilution à l'intérieur du grain causé par des apports d'eau importants

ou bien l'acide tartrique a été brûlé. La première hypothèse nous paraît la plus vraisemblable. En effet, nous avons vu à propos du St-Emilion de Cognac, étudié en 1937, que la combustion de l'acide tartrique nécessite deux conditions :

a) une température maxima voisine de 35°,

b) une période de sécheresse assez importante.

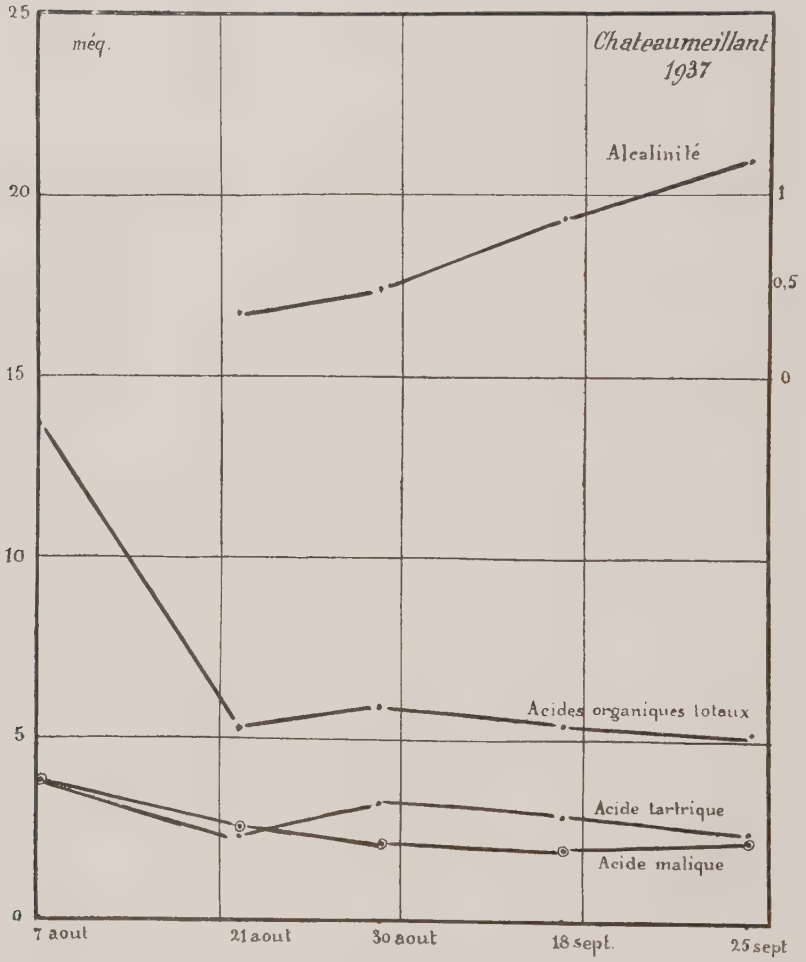

FIGURE 10.

Maturation du raisin rouge de la Station de Chateaumeillant (Cher) en 1937.

Tous les chiffres sont donnés en milliéquivalents pour 100 grains.

Or, le mois de septembre 1936 ne fut ni une période de grande sécheresse, ni de chaleurs excessives dans la région du Cher envisagée. D'ailleurs, les tableaux établis pour 1937 et 1938 montrent le même phénomène et le mois de septembre 1938 fut caractérisé par des températures peu élevées et une période de pluies importantes. Il est donc difficile d'ad-

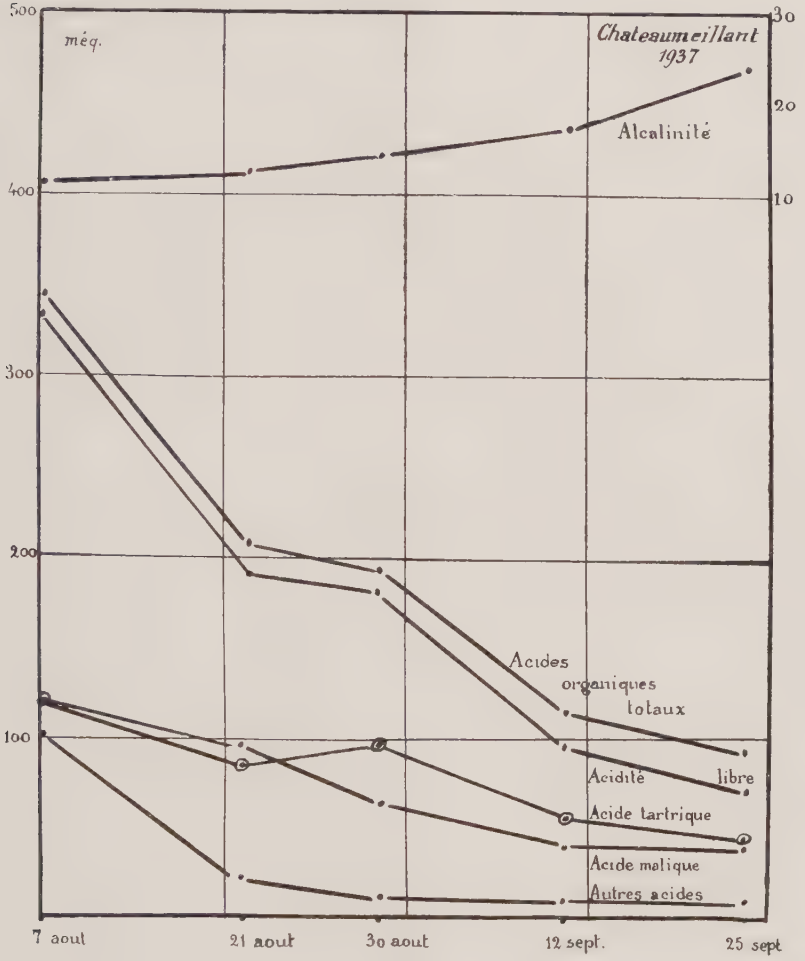

FIGURE 11.

Maturation du raisin rouge de la Station de Chateaumeillant (Cher) en 1937.

Tous les chiffres sont donnés en milliéquivalents par litre de moût.

mettre une combustion de l'acide tartrique. La première hypothèse nous semble plus vraisemblable.

4° En établissant le bilan des acides organiques, nous avons constaté un déficit de 50 à 60 milliéquivalents. Ces raisins se rapprochent donc de ceux que nous avons étudiés pour la région de Cognac.

Année 1937. — L'année 1937 fut, pour la région de Chateaumeillant une année particulièrement sèche et chaude. La période de véraison fut très hâtive : vers le 10 août, et les vendanges eurent lieu le 15 septembre, date particulièrement précoce pour cette région. Les expériences ont été faites sur des raisins pris sur les mêmes pieds qu'en 1936.

1° L'acidité libre et la somme des acides organiques diminuent depuis le 7 août très rapidement pour tomber dès le 25 septembre, à un chiffre inférieur à celui que l'on avait trouvé en octobre 1936. Il y a un écart de 50 milliéquivalents. L'alcalinité des cendres croît régulièrement jusqu'à fin septembre. Les chiffres rapportés à 100 grains montrent une accumulation lente des cations à l'intérieur de la baie mais plus importante que pour les autres années.

2° Le chiffre relativement bas donné par la somme des acides organiques est dû en partie à la faible teneur en acide malique des baies. L'intensité respiratoire étant intense en raison de la température élevée la vitesse de combustion de l'acide malique a été plus grande que l'apport en acide malique. Il y a eu moins grande quantité d'acide malique accumulée dans la baie. Pourtant la teneur finale en acide malique est restée de 40 milliéquivalents. On peut caractériser ces raisins comme les fruits d'un cépage à forte teneur en acide malique même lorsque la température est élevée. Ce cépage habitué aux températures peu élevées, fréquentes dans cette région, n'a pas une grande aptitude à brûler l'acide malique.

3° La courbe donnée pour l'acide tartrique montre une diminution brusque de l'acide tartrique le 21 août, puis une augmentation et une diminution lente jusqu'au 25 septembre. La deuxième moitié du mois d'août 1937 fut caractérisée par une période de sécheresse qui nous expliquerait, comme dans le cas du St-Emilion de Cognac et des cépages étudiés, la même année par M. Peynaud à Bordeaux, cette chute brusque

de la teneur en acide tartrique. Malheureusement ne connaissant pas les relevés exacts des pluies pour cette région nous ne pouvons conclure d'une manière aussi affirmative que dans le cas du St-Emilion de Cognac.

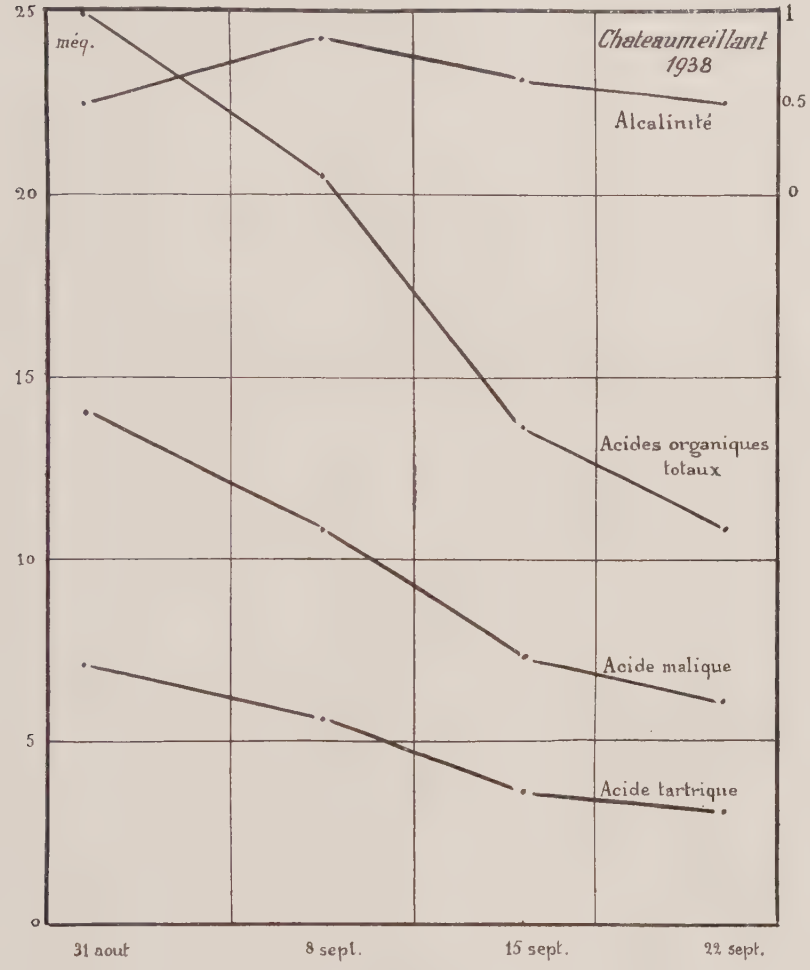

FIGURE 12.

Maturation du raisin rouge de la Station de Chateaumeillant (Cher) en 1938.
Tous les chiffres sont donnés en milliéquivalents pour 100 grains.

4° La deuxième raison pour laquelle la teneur en acides organiques totaux est faible, outre les quantités faibles d'aci-

de malique, apparaît quand on veut établir le bilan des acides organiques. On constate que dès le 30 août, la teneur en acides organiques tels que l'acide succinique n'est que de 5

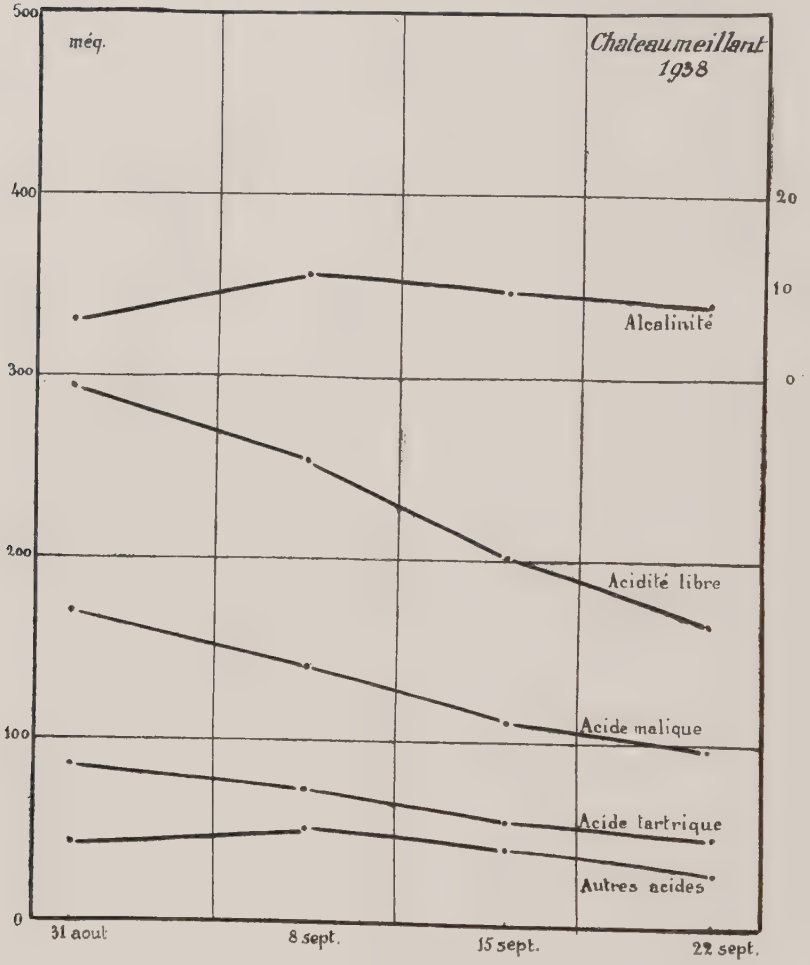

FIGURE 13.

Maturation du raisin rouge de la Station de Chateaumeillant (Cher) en 1938.
Tous les chiffres sont donnés en milliéquivalents par litre de moût.

à 6 milliéquivalents par litre. En 1937, on ne trouve que des traces d'acides non dosés, susceptibles d'être neutralisés à un pH inférieur à 7,4.

En examinant les bilans de 1936 et 1937, on retrouve les mêmes différences de comportement entre les deux années que nous avons signalées à propos du St-Emilion de Cognac. Ceci montre le rôle primordial de la température et du régime des pluies sur le métabolisme d'un même cépage.

Année 1938. — Au point de vue maturation, l'année 1938 fut une année plutôt défavorable. La véraison se place entre le 25 et le 30 août. Dans le tableau nous avons séparé les chiffres relatifs aux raisins verts et aux raisins déjà colorés d'un même pied à la date du 31 août.

Les courbes relatives à l'acidité libre et aux acides organique totaux montrent une teneur élevée en acides organiques pendant la fin de la période de maturation. L'alcalinité croît au début de septembre, puis ensuite décroît légèrement. Les chiffres calculés pour 100 grains montrent une plus grande quantité d'acides organiques chez les raisins colorés que chez les raisins verts à une même date. Cela confirme les courbes établies précédemment qui montrent que les teneurs en acides organiques augmentent jusqu'à la véraison.

L'acide malique que l'on trouve en grande quantité au début de la maturation a été mal brûlé pendant le mois de septembre 1938. On constate fin septembre des teneurs élevées (96 milliéquivalents) en acide malique. Au point de vue combustion de l'acide malique l'année 1938 présente des analogies avec l'année 1936. Les chiffres calculés pour 100 grains montrent que les grains verts et les grains légèrement colorés contiennent la même quantité d'acide malique. Les différences constatées dans la somme des acides organiques sont dues à l'acide tartrique.

Les chiffres correspondants à l'acide tartrique montrent que cet acide diminue lentement mais d'environ 50 p. 100 au cours de la maturation. Quand on étudie les chiffres rapportés à 1 grain on constate une diminution aussi importante de l'acide tartrique. De plus, comme on peut le constater le volume de jus donné par 100 grains diminue dès le 31 août, on ne peut penser à une dilution probable de l'acide tartrique dans le suc cellulaire. L'acide tartrique a été brûlé au cours de la maturation. On se trouve en présence d'une espèce qui est adaptée à brûler l'acide tartrique, même si la température atteint rarement 35°. De même que l'expérience a montré

que l'acide malique disparaît à des températures voisines de 20°, l'acide tartrique peut être brûlé à des températures inférieures à 35°.

Le bilan des acides organiques établi pour 1938 ne s'accorde pas. Il y a un déficit important qui diminue à mesure que l'on se rapproche de la période de maturité, mais qui n'est jamais nul. De même que, lorsqu'il s'agit de l'acide malique, le déficit des bilans nous permet de rapprocher l'année 1938 de l'année 1936. L'étude des St-Emilion de Cognac nous avait déjà montré les ressemblances existant entre les phénomènes de maturation pendant les années 1936 et 1938, lorsqu'on envisage le métabolisme des acides organiques. Au contraire, pour les régions de Cognac, Bordeaux et Chateaumeillant, l'année 1937 apparaît comme une année de maturation anormale.

IV. — Rapports entre l'évolution des acides organiques et l'accumulation des sucres.

Lorsqu'on étudie les rapports entre l'évolution des acides organiques et l'accumulation des sucres, il faut envisager successivement les deux grandes périodes de la vie du grain de raisin.

a) Pendant la période de croissance, les sucres s'accumulent lentement et les acides organiques augmentent à l'intérieur du suc cellulaire : le rapport $\frac{\text{ac. organiques totaux}}{\text{sucres réducteurs}}$ supérieur à 1 pendant la période de croissance tend vers 1 au moment de la véraison.

b) Pendant la période de maturation la somme des acides organiques diminue lentement tandis que les teneurs en sucre augmentent rapidement. Le rapport $\frac{\text{ac. organiques totaux}}{\text{sucres réducteurs}}$ devient inférieur à 1 et tend vers un chiffre très faible. Plus ce chiffre est faible, plus la maturation s'est poursuivie dans des conditions favorables. Le moment où il reste stationnaire indique la maturation complète (cf. tableau III).

Le rapport établi précédemment montre que, pendant la fin de la période de croissance, le sucre augmente plus vite que les acides organiques : le rapport tend vers 1. Ce sont les vitesses d'accumulation du sucre et des acides qui varient en sens inverse. La première augmente tandis que la seconde diminue.

Pendant la période de maturation le sucre varie en sens inverse de l'acidité : la teneur en acide diminue pendant que les sucres s'accumulent dans la baie.

On peut tracer une courbe en portant en abscisse les dates et en ordonnée le rapport $\frac{A}{S}$; on constate pendant la fin de la période de croissance et pendant la période de maturation qu'elle diminue assez régulièrement.

Si au contraire on porte en abscisse les teneurs en acides totaux et en ordonnées les quantités de sucres trouvées à une même date, on ne peut établir une courbe dans le temps.

Les données précédentes nous permettent de penser que nous avons affaire à deux phénomènes physiologiquement distincts : évolution des acides organiques d'une part, et accumulation des sucres d'autre part. Pourtant la température agit sur les deux phénomènes. Si on examine les chiffres relatifs au St-Emilion de Cognac, on constate pour l'année 1937, exceptionnellement chaude, un rapport très bas pendant tout le mois de septembre. Au contraire en 1936 le rapport $\frac{A}{S}$ donne, même fin octobre, un chiffre élevé. Pour l'année 1938 la température particulièrement chaude du mois d'octobre permet de constater à partir du 5 octobre un rapport $\frac{A}{S}$ voisin de celui de 1937. La différence entre les années 1936 et 1938 d'une part et 1937 d'autre part que l'on constate pour les Cognac se retrouve dans le cas des raisins rouges du Cher.

Conclusion.

L'étude poursuivie pendant 3 années qui se différencient nettement au point de vue de la température et des hauteurs de pluie, nous a permis de montrer l'influence prépondérante de ces deux facteurs sur l'évolution des acides organiques ; la température a une influence prépondérante sur la vitesse de combustion de l'acide malique et sur la quantité d'acide brûlé au cours de la maturation.

Dans les régions où les maxima de température sont peu élevés on constate en fin de maturation des teneurs élevées en acide malique. En outre, les années chaudes sont caractérisées par une teneur faible en acide malique à la fin de la

maturation. C'est le cas de l'année 1937. Au contraire l'année 1938 fut caractérisée par une température peu élevée en septembre, même pour la région bordelaise. Aussi on constate des teneurs élevées en acide malique en fin de maturation.

Pour expliquer les variations de l'acide tartrique le régime de pluies intervient avec la température. Deux cas ont été étudiés.

1° L'acide tartrique n'a pas varié pendant la période de maturation. Les variations dans les chiffres trouvés sont dûes à la dilution produite par l'apport d'eau dans la baie pendant la période de pluie et inversement à la concentration causée par l'évaporation de l'eau pendant la période de sécheresse : Cognac 1936 — Chateaumeillant 1936 — Cabernet 1938.

2° Contrairement au phénomène précédent l'acide tartrique est brûlé pendant les périodes de sécheresse et de grande chaleur. La période de pluie qui suit déclanche un brusque apport d'acide tartrique à la baie. Cognac 1937-1938 — Chateaumeillant 1937.

L'influence de la température et du régime des pluies se manifeste également lorsqu'on étudie les variations de l'alcalinité des cendres. On constate une accumulation plus grande des cations pendant les années de sécheresse comme l'année 1937.

L'étude du bilan des acides organiques permet d'établir une différence fondamentale entre les régions : celles dont les bilans s'accordent, celles dont les bilans sont en déficit. Le climat de la région intervient spécialement alors que le cépage n'a pas d'influence : tous les cépages de la région bordelaise (La Grande Ferrade) étudiés sont caractérisés par des bilans qui s'accordent. Les cépages de Cognac et ceux de Chateaumeillant donnent des bilans en déficit.

Les expériences faites sur des vignes ayant souffert de la gelée et des vignes normales, ont montré un retard dans la maturation des vignes gelées. La teneur en sucre est plus grande pour les vignes gelées. Ces expériences montrent l'influence pendant toute la vie de la plante des facteurs qui agissent sur la jeune plante.

INDICE DE BROME.

I. - Principe de la fixation du brome sur les polyphénols complexes : flavones et anthocyanes.

Dans une étude sur la fixation du brome naissant en solution diluée sur les noyaux phénoliques, en collaboration avec MM. R. Quélet et L. Genevois, nous avons étudié les règles de fixation de Br sur les noyaux complexes. Les polyphénols du type quercétol se comportent comme des corps suractivés vis-à-vis du Brome naissant.

Le quercétol, son hétéroside le quercitrin et l'anthocyane qui en dérive, consomment 10 bromes.

Il y a :

fixation de 2 Br par addition au niveau de la double liaison,

fixation de 2 Br par substitution dans le noyau méta diphénol,

fixation de 2 Br par substitution dans le noyau orthodiphénol.

Le noyau est activé vis-à-vis du brome par le reste de la molécule et fait exception à la règle de fixation en méta comme dans le cas de la pyrocatéchine.

Il est intéressant de noter que, dans ce cas, la fixation de brome est la même pour le quercétol libre ou combiné à une molécule de sucre. Le même phénomène se retrouve dans le cas du tanin ou éther pentagallique du glucose, l'acide gallique fixe deux bromes et le tanin fixe 10 bromes par molécule.

Les anthocyanes, en particulier ceux qu'on a isolés de la matière colorante des vins rouges, possèdent à la place du noyau pyrocatéchique un noyau de pyrogallol qui, lui aussi fixe deux bromes. On ne peut établir de règle précise dans le cas des anthocyanes isolés des vins rouges, car on n'a pas encore pu les isoler en assez grande quantité à l'état pur pour les soumettre à l'action du brome.

II. — Technique d'étude.

La réaction utilisée est la suivante :

$$BrO_3K + 5\ Br\ K + 6\ HCl = 6\ KCl + 6\ Br + 3\ H_2O$$

Le brome en excès est titré en retour par l'iode, on ajoute de l'iodure de potassium en excès, l'iode correspondant au brome est titré par l'hyposulfite de Na N/100. On met dans un flacon poudrier bouchant à l'émeri :

10 cm³ BrO_3K N/100
5 cm³ SO_4H_2 4 N
3 cm³ BrK N environ
10 cm³ de solution phénolique

On prépare dans les mêmes conditions un témoin avec 10 cm³ d'eau distillée. La différence entre les deux résultats donne la quantité de brome consommé par la substance étudiée.

Dans un grand nombre de cas il y a lieu d'étudier la marche de la réaction en fonction du temps. On étend alors le milieu comme précédemment indiqué, mais contenant 10 cm³ de BrO_3K N/10, à 100 cm³ dans de l'eau distillée et l'on fait d'heure en heure un prélèvement de 10 cm³. On a soin d'avoir toujours un témoin marchant parallèlement ce qui permet de tenir compte de l'erreur qui pourrait s'introduire par la libération du brome à l'état gazeux.

III. — Comportement des principaux constituants des moûts et des vins vis-à-vis du brome naissant.

Pour appliquer la méthode de fixation de brome au dosage des polyphénols contenus dans les moûts de raisin et les vins, il faut étudier au préalable l'action du brome sur les autres constituants.

A. — Acides organiques, acides aminés, amines.

Les acides tartrique, malique et succinique ne fixent pas de brome en solution N/100. Les acides aminés : glycocolle, alanine, asparagine en solution N/50 n'en fixent pas non plus. De même les mono, di et triéthylamines ne fixent pas de brome en 15 minutes à la température de 15°.

Parmi les acides, l'acide ascorbique à l'état réduit consomme 2 Br par oxydation de sa double liaison. En effet, l'acide dehydroascorbique ne fixe pas de brome.

B. — Alcools.

Nous avons déjà vu que l'alcool benzylique, phényléthylique, ne fixent pas de brome. Les alcools primaires ne fixent pas de brome, par contre les alcools iso en fixent. Dans le cas des vins et des moûts l'alcool éthylique ne gêne pas le dosage des substances phénoliques.

C. — Aldéhydes.

Il faut étudier d'abord le cas des aldéhydes vraies, aldéhyde éthylique, formol.

L'aldéhyde éthylique en solution N/100 ne fixe pas de brome. De même le formol exempt de peroxydes ne fixe pas de Br en 15 minutes à la température de 15°. Cette propriété va permettre de doser les polyphénols dans un vin contenant du bisulfite libre. La combinaison bisulfite-aldéhyde ne fixe pas de Br. On ajoute au vin un excès de formol pour combiner le bisulfite libre et le formol en excès ne fixant pas de brome ne gêne pas.

D. — Cas des sucres.

Le glucose en solution à 150 g. par litre fixe lentement du brome. La vitesse de réaction est activée par une élévation de température. Le sucre interverti fixe du brome avec une vitesse du même ordre à concentration en glucose égale. Le lévulose ne donne rien dans les mêmes conditions.

La fixation du brome par le glucose est un phénomène assez gênant lorsqu'il s'agit de doser les composés phénoliques dans les moûts. On peut cependant se débarrasser de ce phénomène. En effet, l'expérience montre qu'en 15 minutes à la température de 15°, les polyphénols consomment 10 Br par molécule dans le cas du quercétol par exemple. Au bout de ce temps court et à cette température, le glucose n'est pas attaqué. Donc, pour appliquer la méthode aux milieux biologiques il faut opérer la réaction à une température égale à 15°,

mais jamais supérieure (à 21° des traces de glucose sont attaquées) et pendant un temps court ne dépassant pas 15 minutes.

De tous les corps étudiés précédemment un seul est susceptible d'être une cause d'erreur par excès, l'acide ascorbique. Mais sachant le nombre de Br fixés et la quantité d'acide ascorbique réduit contenu dans le moût, on peut corriger l'indice de brome que l'on définit : le nombre de milliéquivalents de brome consommé par litre de moût ou de vin en 15 minutes à la température de 15°.

IV. — Indice de brome des moûts.

Les expériences faites sur les raisins blancs : St-Emilion et Colombar, de Cognac, montrent que la teneur en subtances phénoliques du jus de raisin est sensiblement la même du début de septembre à fin octobre (observations faites en 1936, 1937 et 1938). La matière colorante se constitue donc aux dépens de substances phénoliques incolores préexistantes.

Si on n'observe aucune différence dans la quantité de polyphénols au cours de la maturation, par contre il existe de grosses différences entre le jus d'écoulement du raisin et le jus obtenu par la presse hydraulique. Les indices de brome passent du simple au double (moûts de Sauterne, 5 octobre 1936). De même les verjus ont un indice de brome supérieur à celui des jus d'écoulement (moûts de Cognac, 1-2 octobre 1937). Dans le cas de moûts de Sauternes on ne constate aucune différence entre l'indice de brome des raisins intacts et des raisins ayant subi un début d'atteinte.

Dans le cas des raisins rouges on ne rencontre pas en 1936 et 1937 de différences entre les indices de brome aux différents stades de maturation. L'indice de brome dans ce cas ne dose que les polyphénols colorés et incolores solubles dans le suc cellulaire. Au contraire, pendant l'année 1938 on constate que l'indice de brome des raisins mûrs est le double de celui des raisins verts.

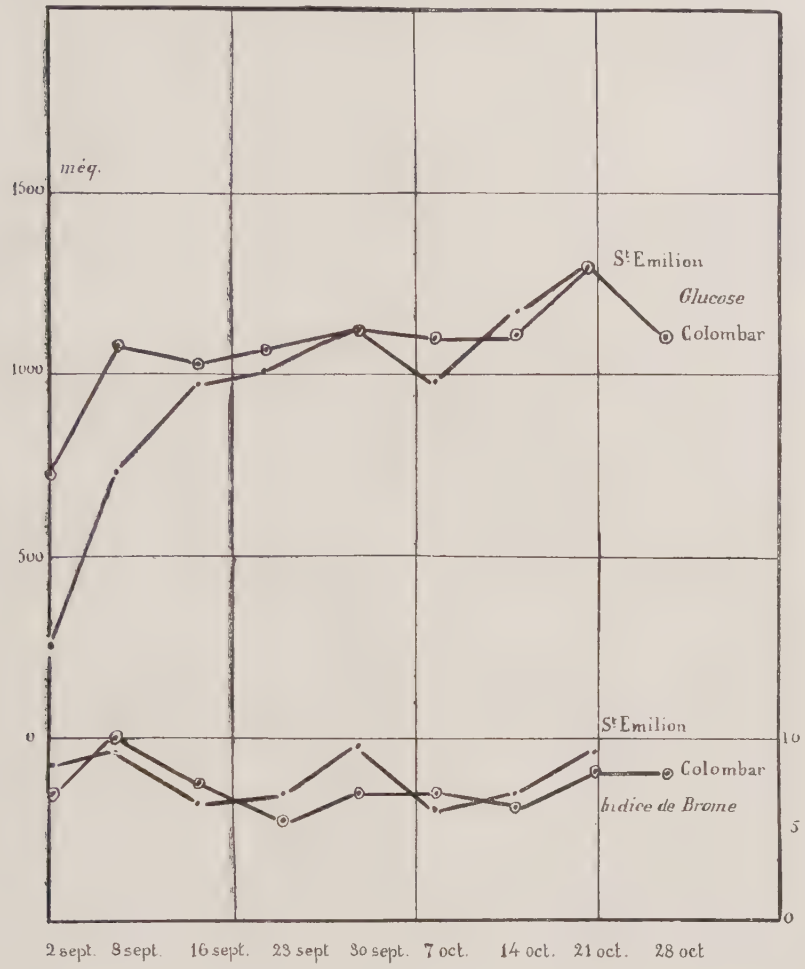

FIGURE 14.

Rapport entre la courbe de variation des sucres comptés en milliéquivalents de glucose, et l'indice de brome pour les deux cépages Colombar et St-Emilion en 1936.

Indice de brome : nombre de milliéquivalents de brome consommé par litre de moût.

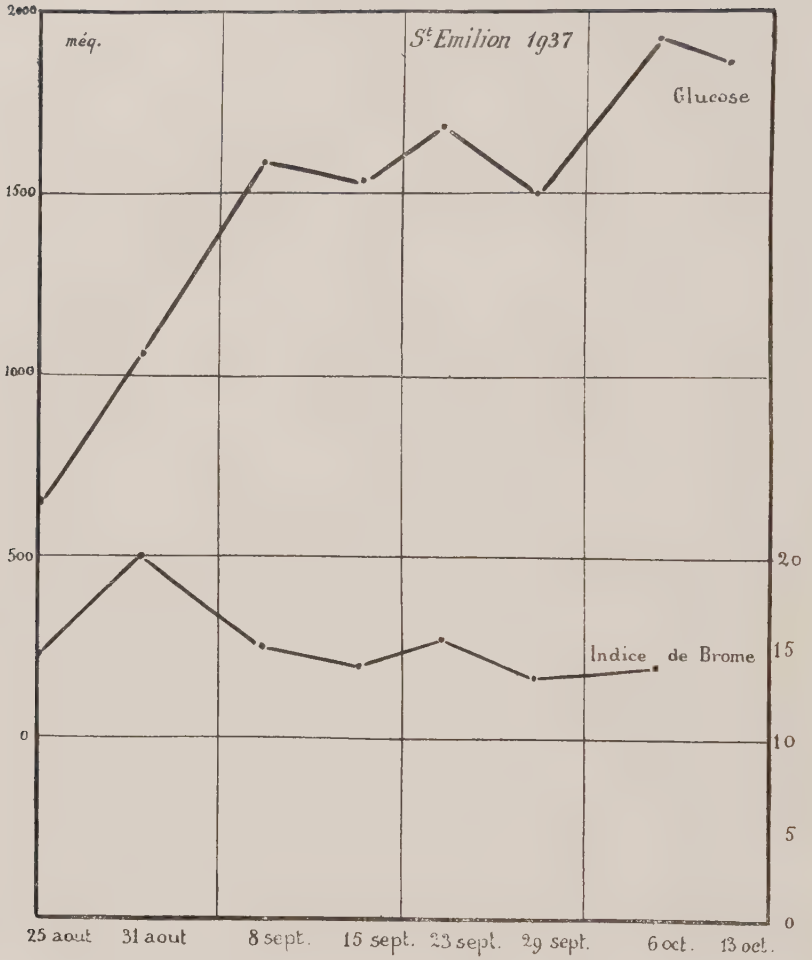

FIGURE 15.

St-Emilion-Le Parveau 1937.

Rapport entre la courbe de variation des sucres comptés en milliéquivalents de glucose et l'indice de brome.

Indice de brome : nombre de milliéquivalents de Br consommé par litre de moût.

TABLEAU II.

Tous les chifires sont donnés en milliéquivalents par litre de moût.

Indice de Br = nombre de milliéquivalents de Br consommé par litre de moût.

Acidité libre = milliéquivalents par litre de jus.

Mouts de Sauternes (5 octobre 1936).

	I	II	III	IV	V
Indice de Br	13	26,4	12	16	14
Acidité libre	112	150	68	74	70

Mouts de Cognac (1-2 octobre 1937). Station Viticole de Cognac.

	A	B	C	D	E	F
Indice de Br	5,4	7,8	6	5,6	3,9	3,8
Acidité totale libre	110	465	485	105	108	113
Sucre	2000	290	254	2222	2200	2000

I = jus première pressée
II = jus troisième pressée
III = deuxième stade début d'atteinte
IV = grains acides
V = grains premier stade, première pression.

A = raisins mûrs cueillis le 1er octobre extraits le 2 octobre
B = verjus extrait le 2 octobre de raisins cueillis le 1er octobre
C = — — — —
D = moût préparé le 2 octobre, 1/2 heure après la cueillette
E = — — —
F = mélange de moûts Billarderie et Parveau 2 oct. 1937.

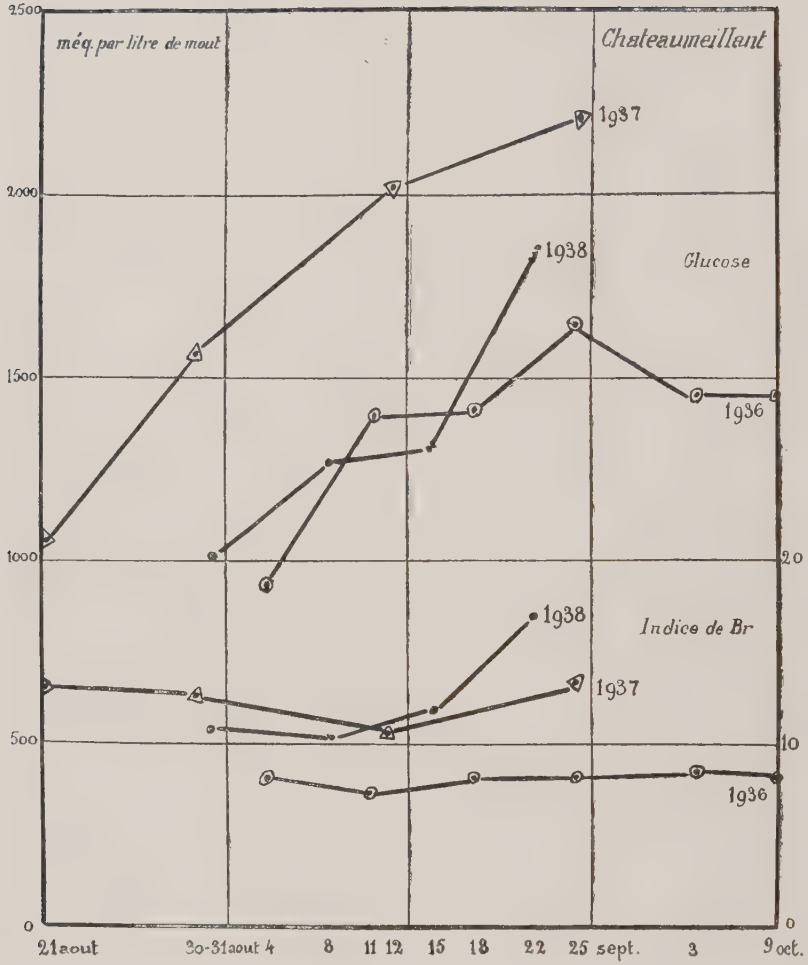

FIGURE 16.

Indice de brome des moûts de raisins rouges. Chateaumeillant 1936-1937-1938.

Les chiffres représentant les teneurs en sucre sont comptés en milliéquivalents de glucose par litre de moût.

Indice de brome : nombre de milliéquivalents de brome consommé par litre de moût.

TABLEAU III.

COGNAC 1938.

Milliéquivalents par litre de jus.

Dates	Vignes gelées		A/S	Vignes non gelées		A/S
	Sucre	Indice de Br		Sucre	Indice de Br	
30 juillet....	79	15,4	4	78	8,8	4,3
9 août.....	88	8	3,97	66,6	6,4	5
13 —				73,3	5,3	4,9
20 —	95	9	3	73,3	6,8	4,7
21 —	136	9,5	3,1	231	6,8	1,5
27 —	94	7,6	4,1	158	6,1	2,5
31 —	111	7,6	3,7	231	6,2	1,8
7 sept.....				482	6,6	0,8
14 —	318	7,2	1,2	680	6,8	0,46
21 —	444	7,5	0,9	977	6,8	0,27
28 —	633	8	0,45	1050	6,2	0,21
5 octobre..	922	7,1	0,25	1233	6,8	0,15
12 — ..	1255	7,4	0,15	1455	8,2	0,11
19 — ..	1400	9,2	0,15	~~2000~~ 1500	7,9	0,10
28 — ..	1678	9,2	0,09	~~3355~~ 1677	8	0,09

En résumé, cette méthode s'est montrée très féconde et nous a permis d'étudier comme nous le verrons plus loin l'évolution des polyphénols dans la baie de raisin depuis sa formation.

Elle a permis de montrer l'apparition, dans la baie, de polyphénols incolores dès les premiers stades de l'évolution du grain de raisin.

POUVOIR RÉDUCTEUR ET TENEUR EN ACIDE ASCORBIQUE DES JUS DE RAISIN AU COURS DE LEUR ÉVOLUTION.

I. — Introduction.

Après l'étude des polyphénols et des acides organiques contenus dans les baies de raisin nous étudierons les variations de l'acide ascorbique et du potentiel d'oxydoréduction des baies de raisin au cours de leur développement. On a signalé depuis longtemps la présence de vitamine C dans les jus de raisin. Mme Randoin en particulier a étudié l'action antiscorbutique du jus de raisin sur des cobayes carencés. Cahill a isolé en 1933 un corps qu'il a identifié avec l'acide hexuronique de Szent-Györgyi ; Bracewell et Zilva ont dosé la vitamine C dans les jus de raisins que Ouokhower reconnaît comme étant pauvres en vitamine C. Nous avons pu caractériser l'acide ascorbique présent dans les jus de raisin sous forme de 2-4-dinitrophénylhydrazone. La présence d'acide ascorbique étant établie d'une façon certaine, nous avons étudié ses variations aux différentes périodes de la vie de la baie de raisin en même temps que l'évolution des substances réductrices.

Cette étude nous permettra de connaître d'une façon approximative le potentiel d'oxydoréduction à l'intérieur de la baie de raisins. On pourra étudier alors les variations de ce potentiel au cours de l'évolution de la baie de raisin.

II. — Méthodes employées.

Pour l'étude des raisins verts très jeunes, il est bon de faire une extraction rapide à chaud et en milieu sulfurique des substances réductrices. Pour éviter le plus possible l'oxydation, il faut faire bouillir la solution sulfurique pour la priver d'oxygène. On jette ensuite les baies dans l'eau bouillante et on les écrase sous l'eau. On filtre et on lave rapidement à 3 reprises avec une solution sulfurique chaude. La solution

employée est environ N/10 en acide sulfurique. L'extraction à chaud et en milieu acide permet d'extraire en entier les corps réducteurs libres et combinés et empêche l'oxydation rapide en solution neutre.

Les raisins étudiés au cours de la maturation ont été écrasés à la presse à main. Le jus filtré rapidement pour éliminer les débris de cellules est étudié immédiatement.

Acide ascorbique total.

L'acide ascorbique libre est identifié et dosé sous forme de dinitrophénylhydrazone (F = 270°), d'après la méthode de MM. Espil et Genevois. On dose par cette méthode la somme : acide ascorbique réduit + acide ascorbique oxydé présents à l'état libre dans le jus de fruit. L'acide ascorbique combiné est dosé par la même méthode après hydrolyse en milieu chlorhydrique pendant huit jours à froid. Une hydrolyse à chaud n'est pas possible car en présence de HCl l'acide ascorbique donne du furfurol.

Réducteur direct dosé au dichlorophénol.

On dose le pouvoir réducteur total, le pouvoir réducteur en présence de formol et en présence de KCN en milieu bicarbonaté. On dose ainsi les dérivés SH bloqués par le formol et le fer II bloqué par KCN.

Réducteur direct dosé au bleu de méthylène.

Le pouvoir réducteur des corps de rH<14 est dosé par le bleu de méthylène en excès. L'expérience est faite dans le vide à pH = 6 et à la lumière solaire. On laisse le bleu 1 heure en contact avec le jus de raisin filtré. Le bleu en excès est dosé par $TiCl_3$ en présence d'une solution d'acétate de K. On dose par cette méthode l'acide ascorbique réduit et les corps à fonction diénol du type de l'acide dioxymaléique et réductone.

Réducteur Y.

D'après la méthode de L. Genevois, on réduit le jus de raisin par un excès de cystéine en milieu bicarbonaté pendant 15 minutes au moins. Il faut au moins 15 fois plus de cys-

téine que de corps réducteur. On bloque la cystéine avec un excès de formol. On attend 5 minutes que la combinaison cystéine-formol se fasse et on dose le pouvoir réducteur au dichlorophénol.

Le chiffre trouvé donne la somme de produits réducteurs à l'état réduit et oxydé, susceptibles d'être réduits par la cystéine à pH = 7 et ayant un potentiel d'oxydoréduction inférieur à celui du dichlorophénol. Parmi ceux-ci se place l'acide déhydroascorbique qui n'est réduit par la cystéine quantitativement qu'à pH = 7 (L. Genevois et P. Cayrol).

III. — Etude du pouvoir réducteur des baies de raisins.

Le tableau IV résume l'évolution du pouvoir réducteur des jus de raisin en fonction du degré de maturation. Ayant appliqué aux jus de raisins la méthode de dosage de l'acide ascorbique de MM. Espil et Genevois, nous avons constaté que le pouvoir réducteur mesuré avec le 2-6 dichlorophénolindophénol était supérieur à celui que donnerait l'acide ascorbique total dosé par la méthode précédente. Au contraire l'expérience a montré que les chiffres trouvés par la méthode de Martini et Bonsignore qui utilisent le bleu de méthylène, concordent avec les chiffres relatifs à l'acide ascorbique total. Pour la période de maturation, nous avons donc trois facteurs : pouvoir réducteur direct, pouvoir réducteur Y, acide ascorbique total.

1. Pouvoir réducteur direct.

Dans le cas du Sauvignon on ne constate aucune variation pendant le mois de septembre. Il en est de même pour le Cabernet. Au contraire, on constate à mesure que le Chasselas mûrit, une diminution du pouvoir réducteur direct.

2. Pouvoir réducteur Y après réduction par la cystéine a ph 7.

Les valeurs du pouvoir réducteur Y restent constantes. La différence entre le pouvoir réducteur Y et le pouvoir réducteur direct est faible dans le cas du Sauvignon. Il y a peu d'acide ascorbique oxydé. Au contraire pour les Chasselas,

TABLEAU IV.

Résultats en microéquivalents pour 100 grains.

Cépage	Dates	Poids de 100 grains	Volume de jus de 100 grains cm^3	Réducteur direct	Acide ascorbique total dinitro	Réducteur Y	Dérivés SH	Provenance
Sauvignon.....	6 sept.	151	90	73		80	8	Grande
	12 —	108	72	74	30	93	8	Ferrade
	20 —	180	120	73	38	86	10	—
	21 —	195	130	170	28	190	30	—
	22 —	175	105	120	27	150	7	—
	23 —	160	95	70	24	89	19	—
	26 —	163	103	150	30	180	30	—
	27 —	168	95	70	30	80	12	—
	29 —	172	122	125	26	104	37	—
Chasselas.....	7 oct.	230	165	13	39	91	3	Marché
	10 —	200	132	6	17	57	3	—
	13 —	212	140	4,2	21	70	3	—
	14 —	190	104	3,7	13	47	0,9	—
	26 —		142	8	24	54	0,9	—
Chasselas.....	9 nov.	225	145	2	29	44	—	Port
Port-Ste-Marie.....	9 —	275	157	1	34	54	—	Ste-Marie
	15 —	233	162,5	5	27	48	—	—
	16 —	255	140	3	18	49	—	—
St-Emilion II.....	19 oct.	175	110	1,5	18	36	traces	Gironde
III.....	19 —	190	144	10	24	60	—	—
III.....	4 nov.	160	75	9	18	34	—	—
III.....	20 oct.	171	130	9	18	63	—	—
St-Emilion	7 nov.	203	135	490	76	500	10	Cognac
	8 —	195	110	11	63	80	—	—
	15 —	165	100	100	20	90	22	—
	17 —	157	85	42	62	63	—	—
	21 —	167	95	10	57	66	—	—
	26 —	200	112	24	33	45	—	—

Cabernet et St-Emilion, de Gironde (1), alors que le pouvoir réducteur Y diminue lentement le pouvoir réducteur direct tombe rapidement à 0. L'acide ascorbique est pour la plus grande partie sous forme d'acide déhydroascorbique.

Le St-Emilion cultivé à Cognac a un pouvoir réducteur Y très élevé qui diminue rapidement au cours de la conservation en frigorifique. Au début le pouvoir réducteur direct est égal au réducteur Y. Il est très grand et dû en grande partie au Fe II. L'acide ascorbique oxydé augmente lentement.

3. Acide ascorbique total.

Suivant les cépages l'acide ascorbique total diminue lentement chez le Chasselas alors qu'il ne varie pas pour le Sauvignon pendant le mois de septembre.

Il semble que l'on puisse différencier les cépages à maturité en : raisins contenant beaucoup d'acide ascorbique réduit et raisin ne contenant plus d'acide ascorbique. Dans le premier groupe nous avons le Sauvignon, dans le second groupe le Cabernet et le Chasselas.

Malheureusement un même cépage se comporte différemment suivant la station où il est cultivé. Le St-Emilion à Cognac contient en fin de maturation tout son acide ascorbique sous forme réduite, à Gironde au contraire il n'a plus que des traces d'acide ascorbique réduit. Donc suivant la région et le mode de culture un même cépage se comporte différemment. La présence de quantités importantes de Fe II chez le St-Emilion de Cognac provient d'un traitement ferrugineux intense de la plante.

Le dosage de l'acide ascorbique, sous forme réduite et oxydée dans les jus de raisins donne un premier renseignement sur la valeur du potentiel d'oxydoréduction à l'intérieur de la baie. En effet, les raisins type Sauvignon dans lesquels on ne trouve pas d'acide ascorbique oxydé ont un rH inférieur ou tout au plus égal à celui de l'acide ascorbique.

L'étude précédente, faite sur différents cépages, a montré des différences importantes qui indiquent que le rH cellulaire varie beaucoup :

(1) Le St-Emilion est un cépage très répandu dans la région charentaise, mais cultivé aussi sur les bord de la Garonne. Gironde est une localité située entre Langon et La Reole à 60 km. en amont de Bordeaux.

1° en fonction du cépage étudié,

2° en fonction du mode de culture,

3° d'une manière générale on constate une augmentation lente au cours de la maturation et de la conservation des baies. Le rH cellulaire inférieur à 14,4 à la fin de la période de croissance devient supérieur à 23 en fin de maturation.

On peut comprendre alors le phénomène du brunissement des jus observés pour les raisins blancs. La disparition de l'acide ascorbique réduit correspond à une variation du rH de la baie. Les polyphénols qui se trouvaient dans la baie sous forme réduite incolore sont oxydés sous forme de quinones colorés de rH supérieur à celui du dichlorophénol.

Le cas des anthocyanes des raisins rouges ne peut être expliqué de la même manière.

Le comportement différent du St-Emilion à Cognac et à Gironde s'explique lorsqu'on considère la valeur du potentiel d'oxydoréduction. Il est très bas pour les raisins de Cognac contenant de l'acide ascorbique réduit et du Fe à l'état Fe II. Au contraire, les raisins de Gironde ne contiennent plus d'acide ascorbique réduit, ni de Fe II. Le rH des baies est supérieur à 14.

ETUDE DE LA RESPIRATION DES RAISINS.

I. — Méthodes employées.

Pour mesurer l'intensité respiratoire nous avons employé la méthode micromanométrique de WARBURG. Cette intensité respiratoire est définie par le nombre de mm^3 d'oxygène consommé par heure et par gramme frais :

$$Io_2 = \frac{mm^3\ O_2}{\text{tissu frais} \times \text{heure}}$$

Connaissant le poids des grains, on peut calculer l'intensité respiratoire de 1 grain. Les expériences ont porté successivement sur 10 et 5 grains pour les raisins jeunes et sur 1 grain pour les raisins étudiés pendant la période de maturation.

Le fonctionnement et le montage de l'appareil de WARBURG ont été minutieusement décrits par WARBURG lui-même (1928), et L. GENEVOIS (1928). Nous avons suivi la technique employée par L. GENEVOIS (1928) pour étudier la respiration des algues.

« Le CO_2 dégagé par la respiration est absorbé au fur et à mesure par la soude. L'oxygène consommé est emprunté à l'atmosphère du récipient. La pression baisse dans l'appareil.

« Soit h la dénivellation manométrique, T la température absolue, V_g le volume du gaz enfermé dans le récipient, P_o la pression normale mesurée avec le liquide manométrique, le volume d'oxygène absorbé x ramené à 0° et à 760 mm^3. Hg a pour valeur :

$$x = h\ \frac{Vg}{P_o} \cdot \frac{273}{T}$$

Il est commode d'employer le liquide de BRODIE pour remplir le manomètre, qui est une solution de ClNa calculée pour que $P_o = 10.000$ mm., h étant lu en millimètres, V_g étant exprimé en mm^3, x est donné en millimètres cubes. La température doit rester rigoureusement constante dans tout l'appareil », (L. GENEVOIS, 1928).

Pour mesurer la quantité de CO_2 dégagé, dans un deuxième récipient on met les grains de raisins sans soude dans le godet central, mais l'atmosphère contient 5 p. 100 de CO_2. La dénivellation lue sur le manomètre correspond à

$$(CO_2\text{-}O_2)$$

connaissant O_2 on calcule CO_2

$$I\ CO_2 = \frac{mm^3\ CO_2}{g.\ \text{tissu frais} \times \text{heure}}$$

le quotient respiratoire est donné par la formule :

$$\frac{I\ CO_2}{I\ O_2} = \frac{CO_2}{O_2}$$

Pour toutes les expériences les cellules de Warburg étaient entourées d'une étoffe noire maintenue par des caoutchoucs avant d'être plongées dans le thermostat pour éviter l'action de la lumière.

La durée moyenne d'une expérience est de 30 heures. Il faut diminuer au minimum le temps écoulé entre le moment de la cueillette et le début d'une expérience. En pratique, on ne peut guère compter moins de 1 heure. Il faut ensuite laisser l'expérience marcher environ 1/2 heure sans tenir compte des chiffres lus sur les manomètres. On ne commence les mesures que lorsque le manomètre qui sert de thermobaromètre n'accuse plus de variations supérieures à + 1 mm ou — 1 mm. Au début, on fait des mesures toutes les demi-heures. Quand l'intensité respiratoire diminue on ne fait plus que des lectures toutes les heures.

II. — Etude de l'intensité respiratoire et du quotient respiratoire.

Pour étudier la respiration des baies de raisins, nous avons mesuré leur intensité respiratoire aux deux périodes importantes de la vie d'un fruit : période de croissance et période de maturation. Les expériences ont porté pendant les années 1937 et 1938 sur des raisins blancs, cépage Sauvignon et sur des raisins rouges, Cabernet franc, qui nous ont été aimablement fournis par M. Souty, Directeur de la Station de Pathologie Végétale du Pont de la Maye, près de Bordeaux.

La période de croissance pour nos climats dure jusqu'au

début d'août, date de la véraison. Elle est caractérisée par une multiplication cellulaire intense : c'est la période de croissance cellulaire.

La deuxième période de la vie de la baie de raisin, période de maturation, va de la véraison à la maturité complète qui se situe fin septembre pour les cépages que nous avons étudiés. On n'observe plus de multiplication cellulaire, mais un gonflement des cellules du parenchyme de la baie. Nous allons étudier les phénomènes respiratoires pour une même baie en fonction du temps que dure l'expérience. Ensuite, nous étudierons les variations de l'intensité respiratoire et du quotient respiratoire aux différentes dates de la croissance et de la maturation.

TABLEAU V.

Raisins de la Grande Ferrade. 8-9 juillet. Sauvignon (1937).

Raisins blancs cueillis le 8 juillet à 8 heures.

Température : 22°.

Grains moyens : 1 grain = 220 mg.

Pulpe de grain : 546 mg., 575 mg.

Temps	Grains entiers			Pulpes		
	$I\,CO_2$	$I\,O_2$	$\frac{CO_2}{O_2}$	$I\,CO_2$	$I\,O_2$	$\frac{CO_2}{O_2}$
8 juillet						
10 heures	103	102	1	72	61	1,10
11 —	100	100	1	80	56,7	1,41
12 —	89	90	0,99	80	61	1,31
13 —	89	86	1,03	82	63	1,44
14 —	93	90	1,03	78	63	1,30
15 —	93	91	1,02	80	63	1,23
16 —	101	93	1,08	78	61	1,31
17 —	97	95	1,02	80	58	1,12
18 —	84	86	0,97	80	56	1,4
19 —						
9 juillet						
10 heures	63	65	0,97	65	54	1,2
11 —	63	65	0,97	80	61	1,31
12 —	60	62	0,95	65	50	1,3
13 —	62	61	1,01	62	47	1,31
14 —	60	59	1,01	60	57	1,05
15 —	60	65	0,92	72	65	1,09
16 —	62	61	0,99	67	61	1,09
17 —						

Les tableaux V et fig. 17, 18 et 19 résument deux séries d'expériences, faites en 1937 à la température de 20-21° sur des Cabernet et Sauvignon, les 8 et 9 juillet 1937. On a étudié séparément les grains entiers et les pulpes.

On constate que :

1° L'intensité respiratoire du grain entier est supérieure à celle de la pulpe seule.

2° Le quotient respiratoire au contraire est inférieur à celui de la pulpe.

3° L'intensité respiratoire du grain diminue lentement au cours de l'expérience. Ce phénomène n'est pas visible dans le cas de la pulpe qui conserve une intensité respiratoire presque constante, tandis que celle du grain passe de 102 mm^3 g./heure à 62 au bout de 31 heures.

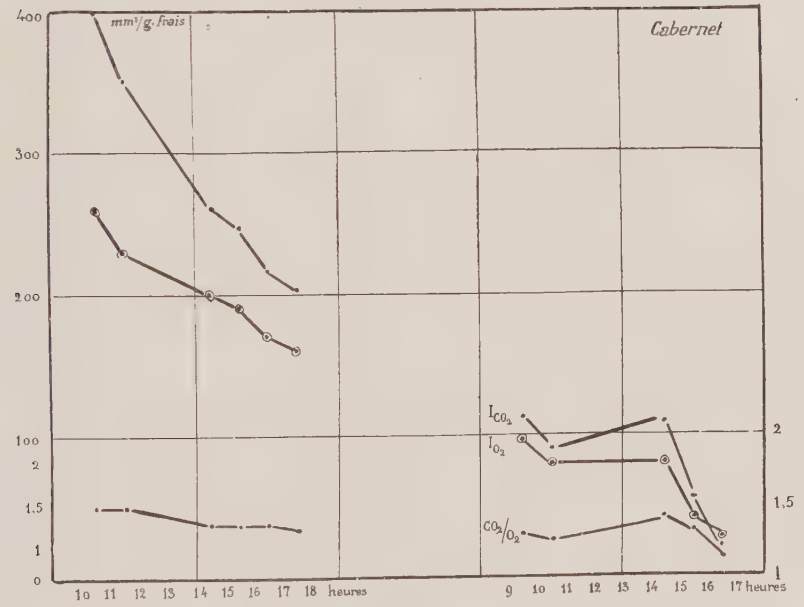

FIGURE 17.

Cabernet 5-6 juillet 1938.
Variations de I_{O_2}, I_{CO_2} et CO_2/O_2 pour un même grain en fonction du temps.

Expérience faite à l'obscurité, température 32°.
Poids moyen de 1 grain : 62 mg.

La dimiuntion lente de l'intensité respiratoire est due à la diminution d'intensité du ferment respiratoire. Quant à la différence d'intensité respiratoire observée entre la baie entière et la pulpe, elle a déjà été signalée par GERBER. Elle est due au fait que les graines ne contenant pas d'acide malique, mais des acides gras, ont une intensité respiratoire forte et un quotient respiratoire faible. Pour la pulpe c'est le phénomène inverse. L'intensité I_{02} du grain entier est un chiffre moyen qui est forcément supérieur au plus faible : le I_{02} de la pulpe.

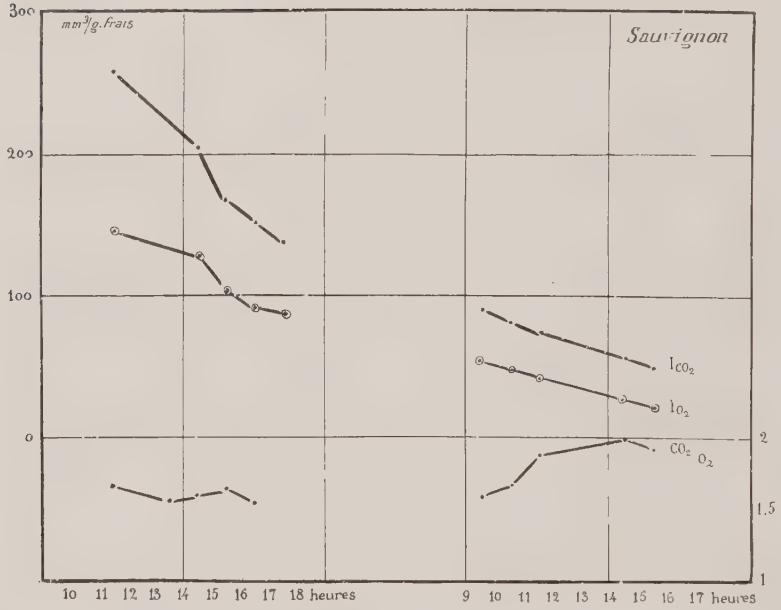

FIGURE 18.

Sauvignon 5-6 juillet 1938.

Variations de I_{02}, Ico_2 et CO_2/O_2 pour un même grain en fonction du temps.

Expérience faite à l'obscurité, température 32°.
Poids moyen de 1 grain : 300 mg.

Une deuxième série d'expériences a été faite en juillet 1938 sur des raisins de même provenance, mais à la température de 30-32°. On observe toujours une diminution lente de l'intensité respiratoire au cours de l'expérience. Les différences

apparaissent moins sensibles pour les raisins étudiés le 21 juillet, date proche de la fin de la période de croissance, que pour les raisins en pleine formation, étudiés les 5 et 6 juillet. Les premiers voient leur I_{02} passer de 94 à 41 mm³ par gramme frais, tandis que le 5 juillet on note un I_{02} initial de 149 et I_{02} final, 30 heures après, qui est tombé à 25. Plus la baie est âgée, plus elle peut sans dommage subsister séparée du reste de la plante. Les échanges gazeux sont plus lents avec l'extérieur.

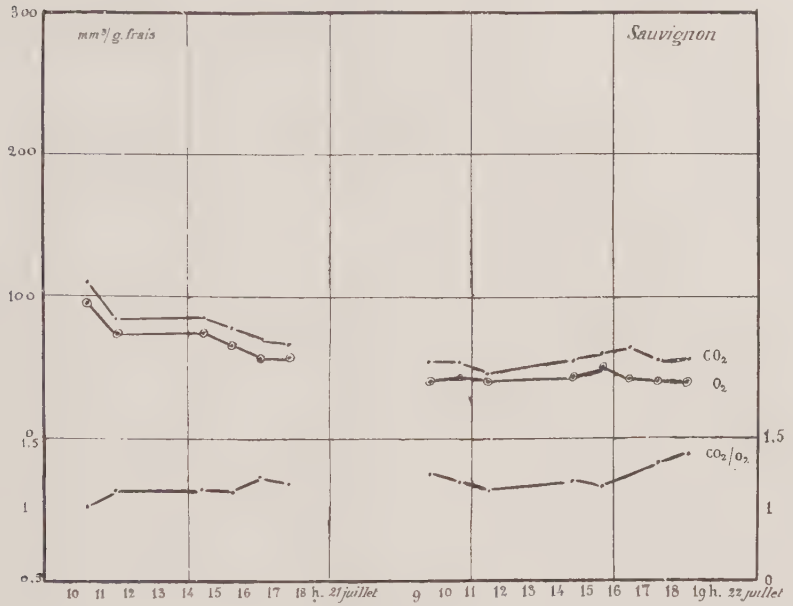

FIGURE 19.

Sauvignon 21 juillet.

Variations de I_{02}, Ico_2 et CO_2/O_2 pour un même grain en fonction du temps.

Expérience faite à l'obscurité, température 32°.
Poids moyen de 1 grain : 923 mg.

A. — EVOLUTION DE L'INTENSITÉ RESPIRATOIRE AU COURS DE LA CROISSANCE.

Si on établit la courbe de variation de l'intensité respiratoire en fonction de l'âge des baies étudiées, on constate que :

1° L'intensité respiratoire comptée en mm³ par gramme frais, diminue régulièrement au cours de la période de croissance. Au contraire, si on calcule pour chaque date l'intensité respiratoire moyenne de un grain, on constate que cette intensité croît avec le poids du grain jusqu'à une valeur maxima. Pendant la période de multiplication cellulaire la quantité de ferment respiratoire augmente et provoque l'augmentation de l'intensité respiratoire.

2° Le phénomène précédent semble être d'ordre assez général puisqu'on a pu le vérifier par les expériences portant sur deux années et sur des cépages différents : Sauvignon et Cabernet.

3° Par rapport au poids des grains, on constate que les I_{02} calculés en mm³ par g. frais et par heure pour les petits grains, sont toujours supérieurs aux chiffres trouvés pour les grains les plus gros. Cette différence est indépendente de la température à laquelle ont lieu les expériences.

TABLEAU VI.

$I\,O_2$ = mm³ O_2 consommés par 1 grain en 1 heure.

Expérience 1937.

Date	Cépage	Poids de 1 grain mg.	Température	$I\,O_2$ pour 1 grain	$I\,CO_2$ pour 1 grain	$I\,O_2$ mm³/g.	$I\,CO_2$ mm³/g.	$\frac{CO_2}{O_2}$	
29-6	Sauvignon	175	21°	14	16,4	80	94	1,17	
1-7	—	472	20°	18,8	24	40	51	1,30	grains
5-7	—	539	22°	42	50	78,2	93	1,16	plus gros
8-7	—	650	22°	26,6	30	41	46	1,12	
1-7	Sauvignon	53	21°	4,6	5,2	88	98	1,10	
5-7	—	102	22°	9	10,7	88	107	1,20	petits
8-7	—	248	22°	20	18,2	80,7	76	0,96	grains
29-6	Cabernet	604	21°	24,2	30	40,5	50	1,04	grains
1-7	—	922	20°	71,2	84,6	77,2	92	1,15	plus gros
29-6	Cabernet	120	21°	12	10,4	98,7	87,2	0,86	
1-7	—	145	21°	12	12,1	83,3	84	1	petits
5-7	—	145	22°	10	9	64,7	63,7	0,98	grains
8-7	—	220	22°	21,5	20,6	92,5	94	1,01	

TABLEAU VII.

Date	Cépage	Poids de 1 grain mg.	Température	$I O_2$ grain	$I CO_2$ grain	$I O_2$ $mm^3/g.$	$I CO_2$ $mm^3/g.$	$\frac{CO_2}{O_2}$	1938
24-6	Sauvignon	10	25-26°	2,8	2,9	280	294	1,09	
29-6	—	24	32	6	7,2	247	302	1,24	petits grains
1-7	—	28	31,5						
5-7	—	62	32	3,6	5,27	60,9	85,2	1,40	
19-7	—	195	31	26	24,9	134	128	0,97	
26-6	Sauvignon	48	25-26°	8,5	8	177	168	0,95	
29-6	—	80	32	13,3	17,1	166	214	1,17	
1-7	—	117	31,5	18	21,8	154	187	1,16	grains
5-7	—	303	32	33,2	55,7	113	184	1,62	plus gros
19-7	—	882	31	92	101	104	115	1,11	
21-7	—	922	32	65	76	71	83	1,15	
13-9	Sauvignon	1259	20	15	35,7	12	27	2,2	
15-9	—	1167	20,5	26	39,4	22,5	34	1,36	grains mûrs
21-9	—	1181	21	16,5	29	13,6	24,5	1,8	
5-7	Cabernet	62	32	12,4	17,3	201	279	1,35	
19-7	—	284	31	40,6	40	143	143	1,00	petits grains
21-7	—	685	32	73,5	83,5	122	131	1,10	
5-7	Cabernet	228	32	33,3	35,2	146	159	1,08	grains
19-7	—	1138	31	168	174	149	154	1,10	plus gros
13-7	Cabernet	725	20	8,5	12,9	13	17,6	1,2	
15-7	—	1145	20,5	13	26,2	11,6	23	2,3	grains mûrs
21-7	—	1042	21	13,5	25,6	13	24,7	1,5	

Si maintenant on calcule comme dans le cas précédent, les I_{02} en mm^3 pour 1 grain et par heure, on constate que ce sont les grains les plus gros, contenant une plus grande quantité de ferment respiratoire, qui ont une plus grande intensité respiratoire.

4° On voit mieux que sur les expériences individuelles l'action de la température sur l'intensité respiratoire dans le tableau d'ensemble. A la température de 30-31°, les I_{02} sont plus grands. Il peut se produire, sous l'action de la température, un phénomène de fièvre dans la baie.

B. — Evolution de l'intensité respiratoire pendant la période de maturation.

Nos expériences ont été faites au mois de septembre, sur des baies dont le poids ne variait plus. L'intensité respiratoire est tombée à 15-20 mm^3 par gramme-heure. Elle est voisine de 10 pour les Cabernet. Si on calcule comme précédemment, les I_{02} pour 1 grain on constate que la diminution amorcée dès le 21 juillet pour les Sauvignon s'est poursuivie jusqu'au début de septembre. A ce moment, le chiffre ne varie plus. La baie est à l'état de vie ralentie. Les échanges respiratoires ont été diminués par le fait que le ferment respiratoire a été dilué par les apports d'eau qui ont suivi l'arrêt de la multiplication cellulaire. De plus, au cours de la maturation, l'intensité du ferment diminue, le tissu devient un tissu de réserve à vie ralentie.

C. — Etude du quotient respiratoire.

Pendant la période de croissance, la valeur du quotient respiratoire est souvent inférieure à 1 dans les expériences faites à 20-21°. Il devient supérieur dans les expériences faites à 30-31°, mais il reste toujours inférieur à 1,33 qui est celui de l'acide malique brûlé seul.

Pendant la période de maturation, on trouve des quotients supérieurs à 1,33 qui montrent que l'acide malique est brûlé pendant cette période. C'est, en effet, une diminution progressive de l'acide malique que nous avons constatée lorsque nous avons établi le bilan des acides organiques au cours de la maturation.

On ne peut conclure dans les expériences précédentes, à une variation dans un sens ou dans l'autre du quotient $\frac{CO_2}{O_2}$. Pour expliquer ces variations, il faut tenir compte du fait que nous avons étudié des raisins pourvus de graines. Ce que nous mesurons, c'est un $\frac{CO_2}{O_2}$ moyen entre celui de la pulpe et de la graine. Comme l'avait déjà signalé Gerber, les graines ne contenant pas d'acide malique ont un quotient respiratoire très faible qui diminue le quotient total. Le rapport

$$\frac{\text{Poids de la graine}}{\text{Poids total du grain}}$$

amène des perturbations dans la valeur du quotient respiratoire qui empêchent ce dernier de varier de façon constante et régulière. Cette perturbation est due à la respiration des graines qui brûlent des acides gras dont le quotient est 0,7.

Conclusion.

La respiration cellulaire croît au moment de la multiplication cellulaire. Elle diminue ensuite lentement pour devenir très faible dans les baies mûres.

Cette diminution des échanges gazeux est due au double phénomène : dilution du ferment respiratoire et affaiblissement de ce dernier, au cours de la vie de la baie de raisin.

La respiration cellulaire suit exactement l'évolution de la vie du tissu. Intense pour le tissu à vie active, elle devient très faible quand ce même tissu passe à l'état de vie ralenti et voit ses vacuoles s'hypertrophier et se charger en eau sucrée.

La valeur du quotient respiratoire dépend des produits brûlés. Elle montre que pendant la période de croissance, il y a d'autres produits que l'acide malique qui sont brûlés. Au contraire, pendant la période de maturation l'acide malique est presque seul brûlé.

L'étude du rapport entre l'oxygène consommé et l'acide malique brûlé aux différents stades nous éclairera sur ce dernier point.

III. — Rapport entre l'oxygène consommé, la disparition de l'acide malique et l'évolution de l'acidité libre.

Comme pour mesurer l'intensité respiratoire, les volumes d'oxygène consommé et de CO_2 dégagé ont été mesurés par la méthode manométrique de Warburg. Les cellules de Warburg ont été entourées d'une étoffe noire pour éviter l'action possible de la lumière.

La durée moyenne d'une expérience est de 30 heures. Il ne nous a pas été possible de prolonger la durée d'une expérience, car au bout de 48 heures, les raisins sont jaunis. L'eau provenant de la transpiration des grains entretient une atmosphère humide et les grains sont atteints de pourriture.

TABLEAU VIII.

Dates 1938	Cepage	Poids de 100 grains g.	Micromol. ac. malique consommé par g.	mm^3 CO_2 par g frais en 30 h.		mm^3 O_2 par g. frais		$\frac{CO_2}{O_2}$ trouvé	Température manomètre
				Calculé pour brûler ac. malique	Trouvés mesure manométrique	Calculés	Trouvés		
29-6	Sauvignon G	86	20	1836,8	4139,4	1377,6	3291	1,25	32°
1-7	— G	135	36,5	3270,4	4140	2452,8	3031,8	1,36	31°5
—	— P	33	20	1792	2913	1344	2649	1,1	—
5-7	— G	289	20	1792	3627	1344	2265	1,6	32°
—	— P	66	15	1344	2575	1008	1827	1,39	—
19-7	— G	880	24	2160	2002	1610	1789	1,12	31°
—	— P	221	37	3350	2080	2480	2102	1,46	31°
5-7	Cabernet G	391	30	2643	4189	1984	3095	1,35	32°
—	— P	74	30	2688	5648	2016	4440	1,27	—
19-7	— G	874	7	627,2	2163	470	2102	1,02	31°
—	— P	253	3,5	315	2547	235	2435	1,04	31°
13-9	Sauvignon	1259	6,5	582	861	436,4	405,2	2,07	20°
15-9	—	1167	8,5	761,6	936	571,2	665,7	1,63	20°5
21-9	—	1181	8,9	794,4	1166	600,0	735,2	1,54	21°
13-9	Cabernet	725	6,8	609,2	529	456,9	417,1	1,25	20°
15-9	—	1145	6	537,6	620	403,2	359,6	1,7	20°5
21-9	—	1042	8	716,8	808,1	523,6	715	1,13	21°

On a calculé, d'une part le nombre de micromolécules d'acide malique correspondant à l'oxygène absorbé et au CO_2 dégagé, d'autre part le nombre de mm^3 d'O_2 ou de CO_2 correspondant à l'acide malique disparu. On sait en effet que :

$$1 \text{ micromol. d'}O_2 = 22 \text{ mm}^3,4$$

et 1 micromolécule d'acide malique exige pour brûler complètement, 3 micromolécules de O_2.

Pour le CO_2 le calcul est identique :

$$1 \text{ micromol. de } CO_2 = 22 \text{ mm}^3,4$$

et 1 micromolécule d'acide malique brûle complètement en dégageant 4 micromolécules de CO_2.

La quantité d'acide malique disparu est donnée par la différence entre la teneur initiale des grains en acide malique avant l'expérience et la quantité d'acide malique dosé dans les grains ayant séjourné environ 30 heures dans les cellules de Warburg. Au bout de ce temps, les grains sont écrasés et épuisés à l'eau bouillante à trois reprises. Dans le liquide

d'extraction l'acide malique est dosé par la méthode de PEYNAUD : oxydation permanganique en milieu dilué N/500 en MnO_4K en présence d'un tampon phosphate pH = 3,1 et dosage de l'acétaldéhyde formé sous forme de combinaison bisulfitique.

Les expériences ont porté sur deux périodes de la vie de la baie de raisin.

A. — Période de croissance juin-juillet.

Les expériences ont montré que :

1° La quantité d'oxygène consommé est toujours supérieure à la quantité nécessaire pour brûler complètement l'acide malique disparu.

2° Le même résultat se retrouve lorsqu'on considère le CO_2 dégagé. Le volume de CO_2 est bien supérieur à celui qui est fourni par l'acide malique brûlé seul.

3° Ces résultats sont indépendants de la nature du cépage étudié. Le même phénomène s'observe pour les raisins rouges Cabernet et pour les raisins blancs Sauvignon.

4° Pour ces expériences on n'observe pas de différences entre le comportement des gros et des petits grains.

5° Le quotient respiratoire est toujours supérieur à 1 mais il est tantôt inférieur, tantôt supérieur à 1,33 : quotient respiratoire de l'acide malique brûlant seul. Toutes ces expériences ont été faites à une température supérieure à 30°, température à laquelle le grain de raisin brûle l'acide malique. Ces résultats prouvent que l'acide malique n'est pas le seul corps attaqué dans ces conditions. Le même phénomène a été étudié par PEYNAUD qui a montré que le grain brûle outre l'acide malique, un peu d'acide tartrique et du sucre.

6° Evolution de l'acidité libre.

Dans les expériences faites en 1937 sur des Cabernet et Sauvignon à la température de 21-22°, on ne constate une diminution réelle de l'acidité que dans le cas où on a étudié la respiration des pulpes seules.

Dans les expériences faites en 1938 sur les mêmes cépages, on constate que la diminution d'acide malique est supérieure à la quantité d'acide libre disparu quand cette quantité n'est pas nulle. Ce résultat n'a rien de paradoxal. En effet,

le chiffre d'acide malique donne l'acide total, libre et salifié. Au contraire, on n'a pu doser, dans ces expériences, que l'acidité totale libre. D'ailleurs on ne constate des différences dans l'acidité libre que dans le cas où de grandes quantités d'acide malique sont brûlées.

TABLEAU IX.

Micromolécules d'acide par g. de raisins frais.

Micromolécules O_2 calculé $\frac{mm^3\ O_2}{22,4}$

1 millimolécule acide malique = 3 millimolécules O_2.

Dates 1938	Cépages	Micromol. acide malique dosé disparu par g.	mm^3 O_2 consommé g.	Micromol. O_2 trouvé consommé dans le même temps	Micromol. acide compté en malique
29-6	Sauvignon	20	3291	146	48
1-7	—	36,5	3031	135	45
—	—	20	2649	118	39
5-7	—	20	2265	101	33
—	—	15	1827	81	27
19-7	—	24	1789	79	26
—	—	37	2102	83	31
5-7	Cabernet	30	3095	138	46
—	—	30	4440	198	66
19-7	—	7	2102	93	31
—	—	3,5	2435	108	36

B. — Période de maturation. Septembre.

Contrairement à ce qu'on observe pendant la période de croissance du grain, on observe en septembre, au moment de la maturation :

Que la quantité d'oxygène consommé est sensiblement égale à la quantité nécessaire pour brûler complètement l'acide malique disparu.

Le même résultat se retrouve si on calcule le CO_2 dégagé. Le Sauvignon et le Cabernet se comportent d'une façon identique.

Le phénomène apparaît plus nettement si on calcule le nombre de millimolécules d'acide malique que représentent soit l'oxygène absorbé, soit le CO_2 dégagé (Tableau X). Pen-

dant la période de maturation : chez le grain mûr, la respiration cellulaire est un phénomène de combustion de l'acide malique. Cela expliquerait pourquoi lorsqu'on fait le bilan des composés du grain pendant la période de maturation au moment où le grain ne reçoit presque plus rien du reste de la plante, on observe : une diminution de l'acide malique, une augmentation de la teneur en sucre réducteur, une teneur en acide tartrique qui varie peu quand les conditions atmosphériques sont favorables.

Quant à l'acidité libre, elle ne varie pas au cours d'une expérience, alors que l'acide malique est brûlé.

TABLEAU X.

Cépage	Date	Micromol. acide malique disparu par g.	Dans le même temps : mm^3 O_2 consommés	Dans le même temps : $\frac{mm^3}{CO_2}$ dégagés	Micromol. acide malique calculé	Micromol. O_2 consommé même temps
Sauvignon	13-9	6,5	405	861	6	18
—	15-9	8,5	665,7	936	10,4 9,9	30
—	21-9	8,9	735,2	1166	10,6 13	31
Cabernet	18-9	6,8	417,1	529,5	6,2 6,02	18,1
—	15-9	6	359,6	620	5,4 6,9	16
—	21-9	8	715	808	10,6 9	31,9

En résumé, il existe une différence importante entre la période de croissance et la période de maturation lorsqu'on étudie les corps brûlés au cours de la respiration cellulaire.

Pendant la première période l'acide malique n'est ni le seul, ni peut-être le principal constituant brûlé. La baie reçoit de la plante verte, des quantités importantes de polysaccharides. Elle brûle des sucres, de l'acide malique, de l'acide tartrique.

Pendant la période de maturation, le fruit ne brûle plus que de l'acide malique, son intensité respiratoire est faible,

mais le quotient respiratoire reste supérieur à 1 et oscille autour de 1,33, quotient respiratoire dû à la combustion de l'acide malique.

TABLEAU XI.

Date 1937	Cépage		Acidité totale libre méq. par kg. Avant	Acidité totale libre méq. par kg. Après 8 h.	$\frac{CO_2}{O_2}$	Température
19-6	Cabernet		460	480	0,86	21-22°
1-7	—	gros	268	238	1,15	—
—	—	petits	253	262		—
—	Sauvignon	gros	245	250	1,30	—
—	—	petits	308	308	1,10	—
5-7	—	gros	289	271 24 h.	1,16	—
—	—	petits	235	232 —	1,25	—
—	Cabernet	gros	249	249 —	0,98	—
—	—	pulpe	294	258 —	0,99	—
8-7	Sauvignon	moyens	283	281 —	0,46	—
—	—	gros	285	230 —	1,02	—
—	Cabernet	grains	261	252 —	1,08	—
—	—	pulpe	390	260 —	1,24	—
1938						
19-7	Sauvignon	gros	322	275 30 h.	1,12	31°
—	Cabernet	gros	330	331 —	1,02	—
—	—	petits	200	200 —	1,04	—
—	Sauvignon	gros	343	323 —	—	—
—	—	petits	375	265 —	—	—
13-9	Sauvignon		57	59 32 h.	2,07	—
15-9	—		48,5	47 —	1,63	—
21-9	—		68	72 —	1,54	—
13-9	Cabernet		90	89 —	1,25	—
15-9	—		85	90 —	1,7	—
21-9	—		68,5	57 —	1,13	—

IV. — **Rapports entre les divers stades de la maturation du raisin (respiration et acide malique) et les tampons d'oxydoréduction du milieu.**

Dans les paragraphes précédents, nous avons défini l'intensité respiratoire et étudié ses variations. Il faut maintenant étudier les rapports existant entre l'intensité respiratoire, et la teneur en acide malique, les corps réducteurs et les composés phénoliques aux divers stades de la croissance et de la maturation.

Nous avons défini précédemment ce que nous entendons

par : réducteur direct, dosé au dichlorophénol en milieu acide, réducteur lent et réducteur Y dosé en milieu alcalin. Le réducteur Y donne la somme des produits à l'état réduit et à l'état oxydé, dosés après saturation du milieu en hydrogène à pH 7, au moyen d'une solution concentrée de cystéine. Ces corps, facilement oxydables à l'air sont extraits rapidement en milieu acide. Les grains de raisins sont traités par une solution d'HCl N/10 portée au préalable à l'ébullition pour chasser l'oxygène dissous. On filtre rapidement et on étudie immédiatement le filtrat.

Avec le liquide d'extraction précédent, on dose les polyphénols à l'état oxydé et réduit. Pour cela on détermine l'indice de brome du milieu. Dans cette étude, nous avons encore envisagé deux périodes : période de croissance et période de maturation.

A. — Période de croissance.

Les expériences ont été faites entre le 18 juin et le 19 juillet, comme pour les expériences précédentes, deux cépages ont été étudiés : cépage blanc : Sauvignon, cépage rouge : Cabernet.

TABLEAU XII.

Cabernet. — Milliéquivalents pour 100 grains, 1937.

Date	Poids de 1 grain mg.	Ac. totale libre	Acide malique	IO_2	Indice de Br	Réduct. direct	Réduct. lent neutre	Réduct. Y	
24-6	11	0,7	0,13		0,20	0,003	0,007		
5-7	74	1,75	0,88	201	2,04	0,029	0,132		petits grains
8-7	240	6,6	4,56		2,54			0,118	
19-7	253	5,06	2,02	143	1,87	0,047	0,096	0,096	
24-6	46	1,06	0,6		0,61	0,007	0,014		
5-7	289	7,94	3,98	146	3,2				grains
8-7	290	7,55	5,26		2,68	0,051	0,096	0,0118	plus gros
19-7	874	28,7	11,25	143	4,37	0,104	0,29	0,252	
12-9	1133	11	6,19	13	1,95	0,014	0,09	0,044	
15-9	1370			11,6					
20-9	1220	9,36	5,32	13		0,020	0,056	0,049	
23-9	1230					0,043	0,059	0,078	période de
25-9	1330	8,9	5,3		0,82	0,063		0,076	maturation
30-9	1370					0,0064	0,019	0,032	
4-10	1200	7,8	3,76		1,72	0,0037		0,037	

Les tableaux et les courbes établis pour cette période montrent, les résultats étant rapportés à 100 grains :

1° A côté de l'augmentation progressive de l'intensité respiratoire rapportée au grain, à mesure que le poids du grain augmente, une augmentation de la teneur en acide malique qui se poursuit jusqu'à la véraison.

2° Le pouvoir réducteur direct augmente ainsi que le pouvoir réducteur Y et le réducteur lent.

3° L'indice de brome qui donne la teneur en polyphénols croît pendant cette période.

TABLEAU XIII.

SAUVIGNON. — Milliéquivalents pour 100 grains, 1938.

Date	Poids de 1 grain mg.	Acidité totale libre	Acide malique	$1\,O_2$	Indice de Br	Réduct. direct	Réduct. lent neutre	Réduct. Y
			Petits grains.					
18-6	8,8		0,05	280	0,33	0,0014	0,0126	0,007
29-6	22	0,6	0,1	247	0,43	0,0032	0,0136	0,011
1-7	33	0,7	0,28	—	0,58	0,0029	0,0210	0,0145
5-7	66	3,58	0,99	201	1,88	0,026	0,110	0,079
19-7	221	9,25	4,07	134	2,2	0,052	0,097	0,112
			Grains plus gros.					
22-6	35	0,85	0,3	177	0,16	0,0025	0,015	0,0096
29-6	81	1,8	0,5	166	1,05	0,0032	0,018	0,0157
1-7	135	3,58	2,5	154,6	1,8	0,0145	0,094	0,058
5-7	289	8,5	3,7	146	3,55	0,066	0,12	0,22
8-7	310	6,07	4,03	146	2,48	0,051	0,093	0,14
19-7	380	30,18	15,9	103	4,57	0,211	0,28	0,21
			Période de maturation.					
8-9	1510	11,1	7,3	—	0,83	0,08	0,08	0,083
12-9	1089	7,65	3,61	12	1,18	0,074	0,10	0,093
14-9	1167	—	5,7	22,5	—	0,12	0,14	0,14
20-9	1180	139	6,2	—	0,8	0,073	0,10	0,086
22-9	1750	—	—	13,6	—	0,126	0,14	0,156
23-9	1600	—	—	—	—	0,07	0,10	0,089
27-9	1630	10,9	4,08	—	0,46	0,076	0,089	0,080

Cette série d'expériences nous a permis de montrer que la période d'intensité respiratoire intense de la baie coïncide avec l'accumulation dans le suc cellulaire, de l'acide malique. De plus, on constate que le pouvoir réducteur dont

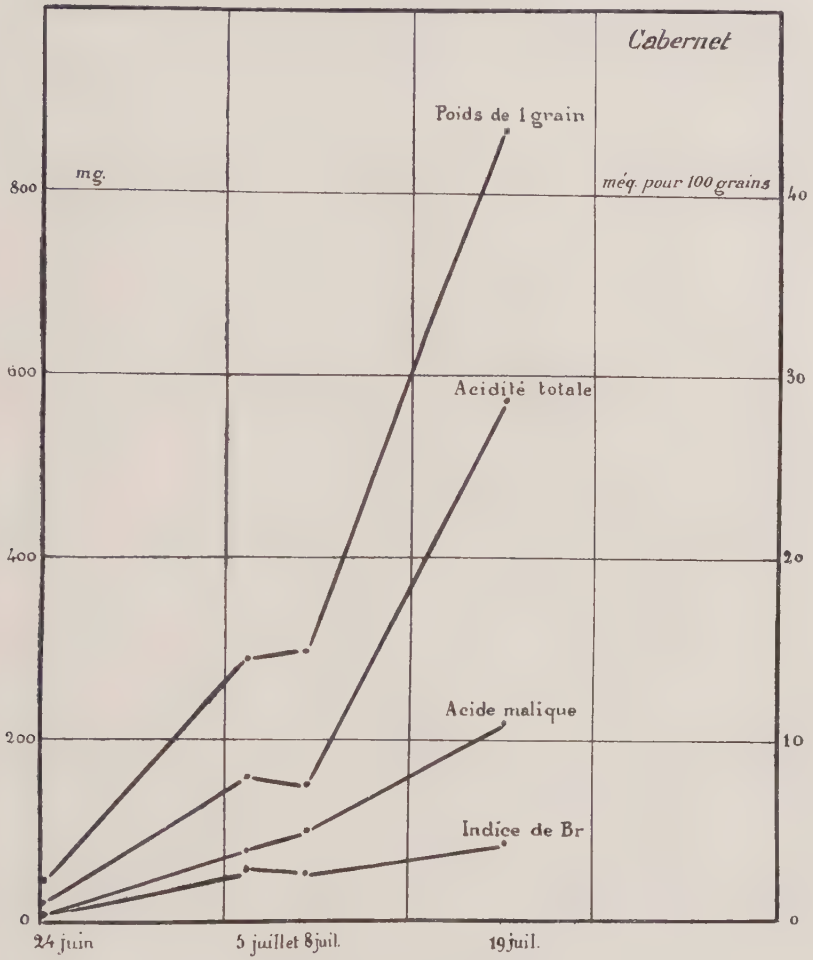

FIGURE 20.

Cabernet 1938.

Evolution de l'acidité libre, de l'acide malique et de l'indice de brome en fonction de la taille des grains pendant la période de croissance.
Le poids de 1 grain est donné en mg. (poids frais).
Les autres chiffres sont calculés en milliéquivalents pour 100 grains.

l'acide ascorbique est un des principaux responsables existe déjà dans la baie très jeune et augmente pendant toute la période de formation. On ne trouve pratiquement pas de cystéine. Le pouvoir réducteur en présence de formol qui bloque les dérivés SH est égal au réducteur direct.

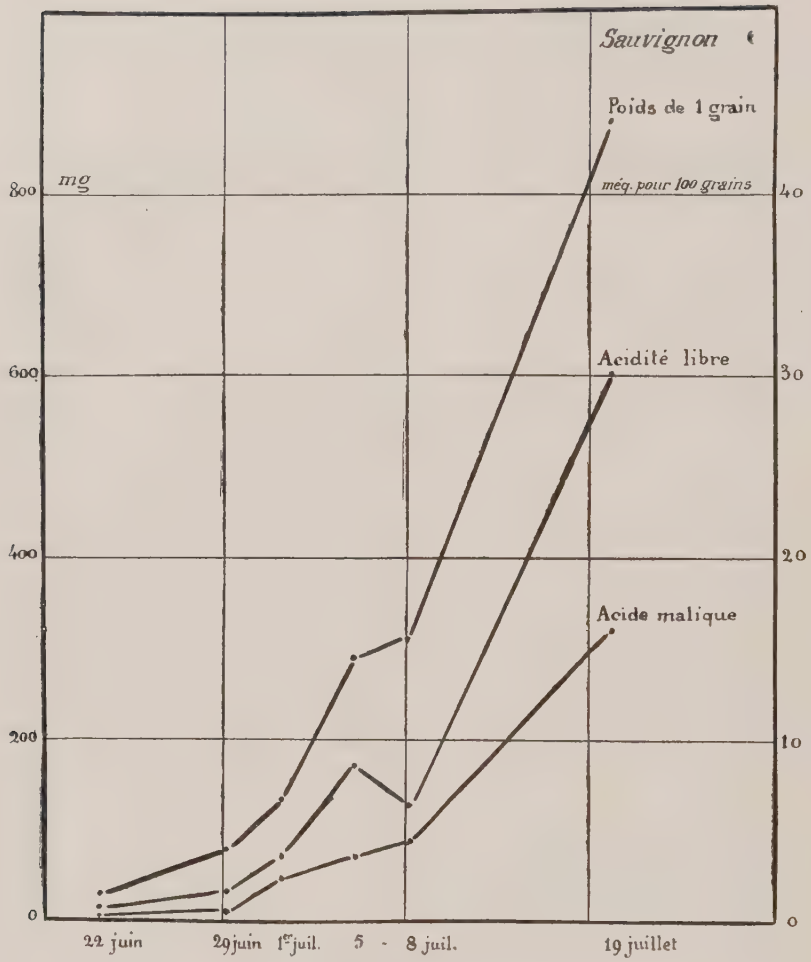

FIGURE 21.

Sauvignon 1938.

Evolution de l'acidité libre, de l'acide malique en fonction de la taille des grains pendant la période de croissance.
Le poids de 1 grain est calculé en mg (poids frais).
Les autres chiffres sont calculés en milliéquivalents pour 100 grains.
Grains les plus gros.

Une autre constatation importante peut être faite au sujet de l'indice de brome. Les chiffres trouvés montrent que même dans le grain très jeune il existe des polyphénols en quantité importante. Le 29 juin le chiffre trouvé est déjà le 1/5 de celui du 19 juillet. Les matières colorantes se for-

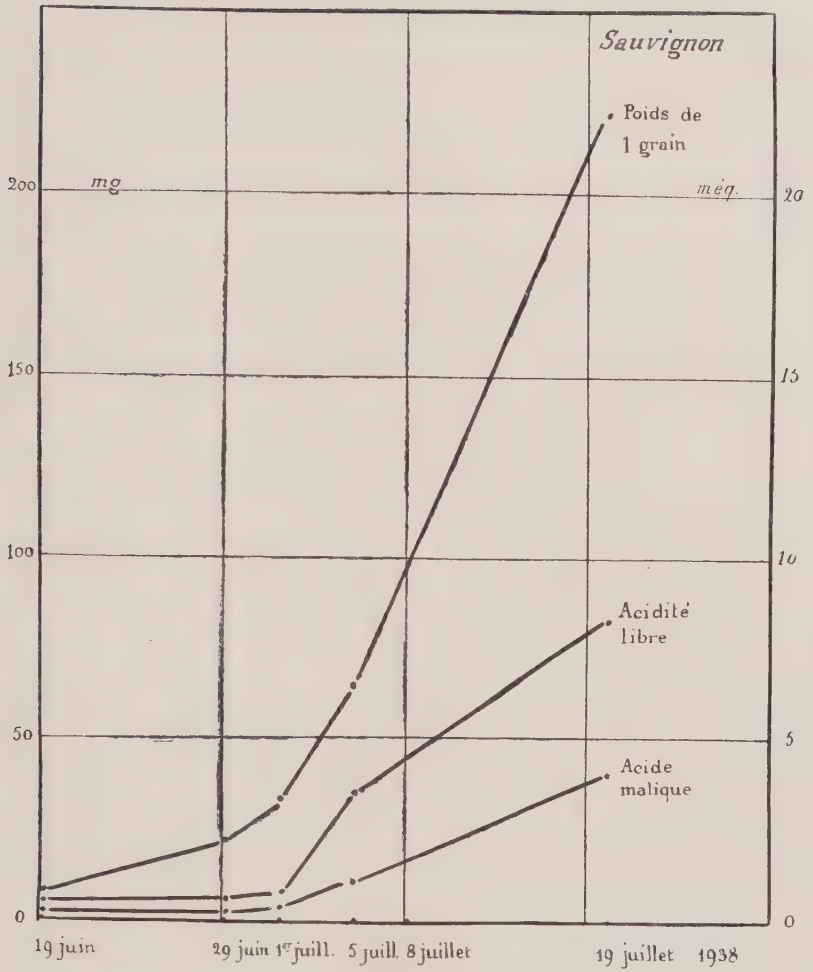

FIGURE 22.

Sauvignon 1938.

Evolution de l'acidité libre et de l'acide malique en fonction de la taille des grains pendant la période de croissance.

Le poids de 1 grain est calculé en mg. (poids frais).
Les autres chiffres sont calculés en milliéquivalents pour 100 grains.
Petits grains.

ment très tôt dans la baie et leur teneur augmente pendant toute la période de croissance. Le même phénomène se produit pour les cépages rouges. Les baies de Cabernet vert possèdent déjà à la fin de juillet une notable quantité de polyphé-

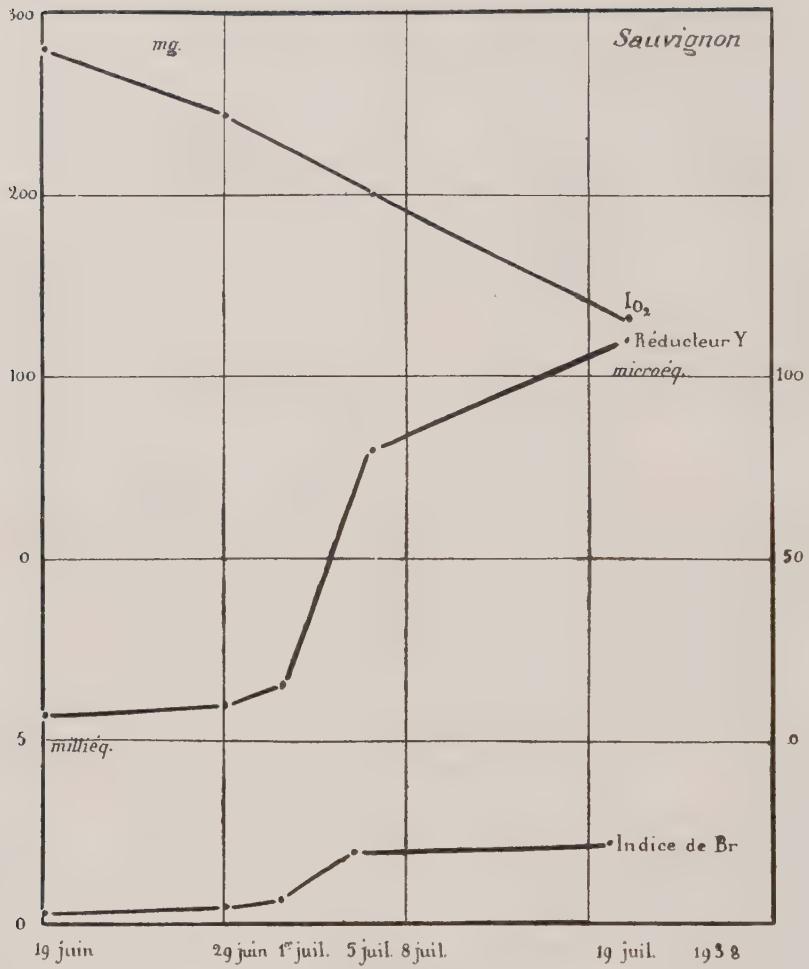

Figure 23.

Sauvignon 1938 (petits grains).

I_{o2} = mm³ O_2 dégagés par gramme frais.
Réducteur Y : microéquivalents 100 grains.
Indice de Br : milliéquivalents de Br consommés rapportés à 100 grains.
Evolution de I_{o2}, du pouvoir réducteur Y et de l'indice de brome pendant la période de croissance.

nols qui se transformeront en anthocyanes colorés au cours de la maturation. En effet, si on chauffe le liquide d'extraction chlorhydrique de la baie Cabernet, on obtient un liquide

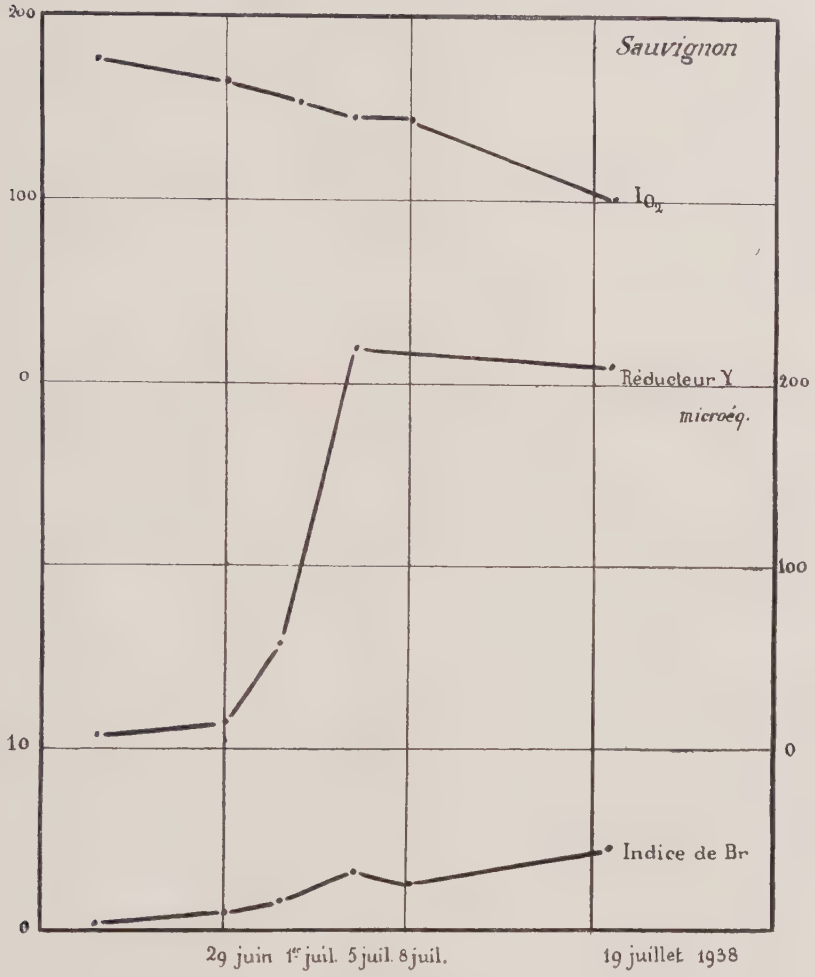

FIGURE 24.

Sauvignon 1938 (grains plus gros).

I_{O_2} = mm³ O_2 dégagés par gramme frais.
Réducteur Y : microéquivalents pour 100 grains.
Indice de Br : milliéquivalents de Br consommés, rapportés à 100 grains.
Evolution de I_{O_2}, du pouvoir réducteur Y et de l'indice de brome pendant la période de croissance.

rose. Cette réaction peut être faite sur de très jeunes baies dès la fin de juin (Réaction de Combes).

Nous avions pensé pouvoir, par cette réaction, différencier

les cépages blancs et rouges lorsque les baies sont jeunes. Malheureusement un chauffage un peu plus prolongé permet d'obtenir aussi un liquide rouge avec les jus d'extraction des raisins blancs. Les flavones des raisins blancs et les anthocyanes des raisins rouges, auraient donc une origine commune : un ou des polyphénols de formules très voisines, diffèrent par le nombre des OH phénoliques. Ils apparaissent très tôt sous leur forme incolore dans la jeune baie et restent incolores jusqu'à la véraison.

B. — Période de maturation.

Nous avons déjà vu que cette période était caractérisée par une intensité respiratoire faible. Le grain de raisin brûle son acide malique et même un peu d'acide tartrique dans les périodes de grande sécheresse (expériences de Peynaud en 1937 et les nôtres la même année sur les St-Emilion de Cognac). Les courbes montrent alors une diminution lente de l'intensité respiratoire. L'acide malique diminue aussi, sa vitesse de disparition dépend de la température.

Le pouvoir réducteur direct reste sensiblement le même pendant tout le mois de septembre pour les Sauvignon. Il diminue lentement et devient presque nul à maturité dans le cas des Cabernet.

Le pouvoir réducteur Y reste sensiblement constant pour les Cabernet mais toujours nettement supérieur au réducteur direct. Il y a une quantité importante d'acide déhydroascorbique.

Dans le cas des Sauvignon, le réducteur Y ne varie pas non plus, mais on remarque une différence faible avec le réducteur direct. Il y a peu d'acide déhydroascorbique. Nous avons déjà montré le comportement différent des cépages vis-à-vis du pouvoir réducteur.

Le pouvoir réducteur lent, alcalin, donne un chiffre constant pour le Sauvignon et baisse dans le cas du Cabernet. Il suit la courbe établie pour le pouvoir réducteur direct.

L'indice de brome ne varie pratiquement pas pendant la période de maturation des raisins blancs. Dans le cas des raisins rouges, l'indice de brome mesuré à cette période ne donne que la teneur en polyphénols du suc cellulaire qui est très faible. Chez le Cabernet toute la matière colorante se

trouve concentrée dans la pellicule et ne passe pas dans le jus de presse.

La formation précoce des matières colorantes des baies de raisin et la constance du chiffre de polyphénols pendant la période de maturation, ont été trouvées sur des raisins cultivés en Afrique du Sud et étudiés par M. Copeman.

V. — Conclusions.

Les expériences précédentes ont porté sur l'étude de la physiologie de la baie de raisin. Elle nous ont permis de montrer :

1° L'augmentation progressive de l'I_{02} de la baie de raisin pendant la période de multiplication cellulaire.

2° La diminution progressive de l'intensité respiratoire et d'une manière générale des échanges gazeux avec l'atmosphère, à mesure que la baie de raisin mûrit et se gonfle de substances nutritives, pour devenir très faible quand le fruit est mûr.

Pendant la période de croissance l'acide malique n'est pas le seul aliment brûlé par la baie de raisin. Au contraire pendant la maturation, la baie ne brûle plus que l'acide malique.

Nous avons pu montrer l'évolution des polyphénols et leur apparition très tôt dans le fruit, ainsi que celle des substances réductrices.

Nous avons établi aux différents stades de l'évolution : l'intensité respiratoire, la teneur en acides, et la valeur des tampons d'oxydoréduction du milieu.

En calculant d'une part le CO_2 dégagé et l'oxygène absorbé, pendant une période de 24 ou 48 heures, nous avons pu constater que le CO_2 dégagé ou l'oxygène absorbé étaient, aux erreurs d'expérience près, les quantités théoriques dues à la combustion complète de l'acide malique. On ne peut donc pas dire comme le pensait Gerber que l'acide malique disparaît et se transforme en sucre par une réaction analogue à celle de l'acide lactique dans le muscle. Si cette dernière réaction se produisait, on constaterait en effet, une quantité de CO_2 dégagé inférieure à la quantité calculée en supposant la combustion complète de l'acide malique.

CONCLUSION GÉNÉRALE.

Les phénomènes physiologiques étudiés à propos de la baie de raisin paraissent intimement liés les uns aux autres.

En effet, *pendant la période de croissance* de la baie de raisin nous constatons une multiplication cellulaire intense qui entraîne une augmentation progressive de l'intensité respiratoire.

Le rH cellulaire est très bas, inférieur ou tout au plus égal à celui de l'acide ascorbique. La présence d'acide ascorbique réduit tamponne le milieu au point de vue oxydoréduction. Aussi les polyphénols qui, dans la baie de raisin blanc sont responsables du brunissement, existent même dans les jeunes baies sous forme réduite et incolore.

Cette période d'intense activité respiratoire est la période de formation et d'accumulation des acides organiques à l'intérieur de la baie de raisin. Le grain vit aux dépens des autres parties de la plante. Il fonctionne encore comme un organe vert et contient de l'amidon.

Au contraire, *pendant la période de maturation :*

Les échanges gazeux avec l'atmosphère diminuent et deviennent très faibles. En effet les cellules ne se multiplient plus mais se gonflent de matières nutritives. Le ferment respiratoire est dilué, son intensité est très faible.

Le rH cellulaire varie suivant les cépages. Certains comme le Sauvignon ont encore un rH cellulaire inférieur à 14. Les polyphénols de la baie sont sous forme incolore. Au contraire, des cépages comme le Chasselas, certains St-Emilion, ont un rH supérieur à 23. Les polyphénols sont sous forme de quinones colorés.

La période de maturation est la période où la baie vit aux dépens de ses acides organiques qu'elle brûle pour se procurer de l'énergie. Elle continue à accumuler du glucose. Au contraire, la teneur en polyphénols reste constante.

BIBLIOGRAPHIE.

Références de l'Introduction.

Bérard. – Mémoire sur la maturation des fruits. *Annales de Chimie et de Physique*, 1821, **16**, 152-225.

Couverchel. — Mémoire sur la maturation des fruits. *Annales de Chimie et de Physique*, 1831, **46**, 147.

Références du chapitre I.

Archbold H. K. — Chemical Study in the Physiology of Apples. *Annals of Botany, vol.* XLVI, n° 183, july 1932, p. 406.

Bennett Clark, T. A. — The role of Organic Acids in Plant metabolism New Phytol., 1933, **32**, 37-128 ; *Chem. Abstr.*, 1933, **27**, 3273-5373.

Bremond E. — Contribution à l'étude analytique et physicochimique de l'acidité des vins. Thèse, Alger (1937).

Brunner et Chouard. — Ueber das Vorkommen einer Glycobernsteinsaüre in dem Pflanzen und deren Nachweiss als Monojodbernstein saüre. *Berichte d. D. ch. Gesel*, 1886, **19**, 598.

Copeman P. R. and Frater G. — Some Physical and Chemical Changes occuring during the Ripering of Grapes. *Union S. A. Dept. Agric. (Div. Chem.) Sci. Bull*, 1926, **50**.

Copeman P. R. — Study in the Growth of Grapes. *Roy. Soc. S. A.*, 1927, **14**, 389 et 385 ; 1928, **16**, 103 et 107.

Copeman P. R. — Some changes occuring during the Ripening of Grapes. *Union S. A. Dept. Agric. (Div. Chem.) Sci. Bull.*, 1927, 60.

Depardon, Daridan, Buron. — Les moûts du Centre en 1932. *Annales des Falsifications*, 1933, **26**, 94.

Dutoit M. et Duboux M. — Dosage des acides malique, tartrique et succinique dans les vins. *Bull. Soc. Chim.*, 1913, **13**, 832.

Ferré L. — Indice œnologique et rétrogradation de l'acide malique. *Ann. Falsif.*, 1928, **21**, 75.

Ferré L. — L'analyse des moûts. IV[e] Congrès de Chimie industrielle, 1925, 585.

Genevois L. — Formation et évolution physiologique des acides organiques dans le raisin. *Rev. Vitic.*, 1938, **88**, 103-121, 382-447.

Girard A. et Lindet. — Sur le dosage de l'acide malique dans les raisins. *Bull. Soc. Chim.*, 1898, **19**, 385.

Hilgeman R. H. — Grapefruit Maturity Studies in the Salt River Valley. *Calif. Citrograph.*, 1936, **21**, 462, 492.

Hilgeman R. H. and Smith J. B. — Grape fruit Maturity studies en Arizona. *Calif Citrograph.*, 1938, **24**, 54 and 64.

Hugues E. — Recherches sur les acides fixes du raisin pendant sa maturation. *Ann. Falsif.*, 1929, **22**, 463.

MESTREZAT W. — L'acide malique dans les moûts et les vins. *C. R. Ac. Sc.*, 1907, **144**, 260.

MAC NAIR J. B. — The Sequence and Climatic Distribution of some Plants Acids. *American Journal of Botany*, nov. 1936.

NUCCORINI R. et ZACCAGNINI A. — Ricerche chemiche sulle Frutta. *Am. sperg. Agrar.*, 1930, **4**, 301.

PEYNAUD E. — L'acide malique dans les moûts et les vins de Bordeaux. *Ann. Falsif.*, 1938, 355-6,332.

PEYNAUD E. — Maturation des cépages fins du Bordelais en 1937 et 1938. *C. R. Soc. Sciences Phys. et Nat. de Bordeaux*, années 1938 et 1939.

RIBEREAU-GAYON J. et PEYNAUD E. — Principe d'une nouvelle méthode de dosage de l'acide malique. *Bull. Soc. Chim.*, 1938.

RUHLAND W. and WETZEL K. — Physiology of Organic Acids in Green Plants. Planta I, 1926, 558 ; III, 1927, 705 ; V, 1929, 503.

SEMICHON et FLANZY. — Sur les acides organiques des jus de raisins. *C. R. Acad. Sc., Paris*, 1933, **197**, 198.

VENEZIA M. et GENTILINI L. — The Ripening of Grapes Experimental Studies of Juice and Skin. *Ann. Staz. sper. viticolt. enol. Conegliano*, 1934, **4**, 207, 18.

RÉFÉRENCES DU CHAPITRE II.

KOPPESCHAAR Z. — *Anal. Chem.*, 1876, **15**, 233.

DAY A. R. and TAGGERT W. — *Ind. and Engin. Chem.* 1928,**20**, 545.

KOLTHOFF I. M. — Die Massanalyse, Berlin, Springer, 1931.

FRANCIS and HILL. — *J. American Chem. Soc.*, 1924, **46**, 2498.

EDWARDS B. G. — *J. Biol. Chem.*, 1937, **119**, n° 1, 29-30.

GENEVOIS L. et GATET L. — *Bull. Soc. Chim. de France* 1938, (5), **5**, 16,579.

GATET L., QUÉLET R. et GENEVOIS L. — *Bull. Soc. Chim. de France* (sous presse).

COMBES R. — *C. R. Ac. Sc., Paris*, 1922, **174**, 240.

ONSLOW M. W. — The Anthocyanin Pigments of Plants. Cambridge. *The University Press*, 1925.

WILLSTÄTTER R. — Ueber die Farbstoffe der Blüten und Fruchte. *Sikber AK Wiss*, Berlin, 1914, 402.

RÉFÉRENCES DU CHAPITRE III.

BRACEWELL M. P. and S. S. ZILVA. — Vitamin C in the Oranges and Grapefruits. *Biochem. J.*, 1931, **25**, 1081.

CAHILL W. M. — Recherches sur le facteur antiscorbutique. *Bull. Soc. Chim. biol.*, 1933, **10**, 1462.

ESPILL L. et GENEVOIS L. — Microdosage de la vitamine C. *Bull. Soc. Chim.*, 1938, **5**, 17 et 1532.

GATET L., GENEVOIS L. et ESPIL L. — Acide ascorbique et pouvoir réducteur des jus de raisins. *Bull. Soc. Chim.*, 1938.

GATET L. — Eutde du pouvoir réducteur des jus de raisin au cours de la maturation. *Enzymologia*, 1939, vol. VI, fasc. 6, **p. 375.**

GATTI G. et KNAKSISKY A. — La réaction de Tillmans pour l'acide ascorbique est inapplicable aux végétaux qui contiennent du tanin. *Arch. Intern. Pharmacod.*, 1938, **59**, 195-197.

GENEVOIS L. — Dosage des substances réductrices dans les tissus vivants. *C. R. Soc. Sciences Phys. et Nat. de Bordeaux* (3 juin 1937).

GENEVOIS L. — Les substances réductrices au cours de la maturation du raisin. *Bull. Soc. Chim.*, 1938, **5**, 579.

GENEVOIS L. et CAYROL P. — Combinaisons des aldéhydes et des dérivés thioaminés. *Bull. Soc. Chim. France*, 1939, **6**, 1223.

GENEVOIS L. et CAYROL P. — Bloquage et transfert de l'hydrogène réducteur. *Enzymologia*, 1939, vol. VI, fasc. 6, p. 352.

MANCEAU P. POLICART A. et FERRAND M. — Remarques sur le dosage chimique de l'acide ascorbique.

MARTINI et BONSIGNORE. — *Biochem. Ztschr.*, 1934, **273**, 170.

MEUTZER C. et VIALARD GOUDON A. — Contribution à l'étude de l'acide ascorbique réduit. Remarques sur le dosage par la méthode au bleu de méthylène. *Bull. Soc. chim. Biol.*, 1937, **4**, 707.

OUOKHOVA N. P. — Grapes as a source of vitamin C. Vitamin Problems II, 1937, 195-200.

SZENT-GYÖRGYI A. — Studies of biological oxidation and some of its catalysts. *Acta*, 1937, **9**, fasc. I.

TILLMANS J., HIRSCH P. and HIRSCH W. — Das Reduktionsvermogën pflanzlicher. Lebensmittel und seine Beziehung zum Vitamin C. *Chem. Abstr.*, 1932, **26**, 5324.

RÉFÉRENCES DU CHAPITRE IV.

BLACKMAN F. F. and PARIJA P. — Analytic Studies in Plant Respiration of a Population of Senescent Ripening Apples. *Proceedings of The Royal Society*, B vol. 103, 1928, 412.

PARIJA P. — II. The Respiration of Apples in nitrogen and its Relation to Respiration in Air. *Proceedings of the Royal Society B. V.* 103, 1928, 446.

BLACKMANN F. F. — III. — Formulation of a Catalytic system of the Respiration of Apples and its relations to oxygen. *Proceedings of the Royal Society B.* V. 103, 1928, 446.

GENEVOIS L. — Formation et évolution biologique des acides organiques dans les raisins. *Revue de Viticulture*, 1938, **58**, N° 2276, 103.

GENEVOIS L. — Sur la fermentation et sur la respiration chez les végétaux chlorophylliens. *Thèse* 1928 et *Protoplasma*, 1928, **4**, 67.

GERBER. — Recherches sur la maturation des fruits charnus. *Thèse*, Paris, 1897.

GUSTAFSON F. G. — Intramolecular Respiration of Tomato Fruts. *Amer. J. Botany*, 1930, **17**, 1011.

KIDD F. — The Respiration of Fruits. *Not. Proc. Roy. Institution*, 1934, **28**, 351.

LUTZA J. C. and CHIMA T. S. — Some Studies in Respiration and other Metabolic Activities in Berries of the Grape vine. *Indian J. Agric. Sci.*, 1931, **1**, 695.

MAQUENNE et DEMOUSSY. — Nouvelles recherches sur les échanges gazeux des plantes avec l'atmosphère. Paris, Gauthier-Villars, 1913.

WARBURG O. — Métabolisme cellulaire et métabolisme des tumeurs Paris, Alcan, 1928 (Stoffwechsel der Tumoren) Berlin, Springer, 1926.

WARDLAW and LÉONARD E. R. Preliminary observations of some Aspects of Developpement, Ripening and Senescence with Special Reference to Respiration. *Annals of Botany*, 1936, Vol. 50, n° 199, July.

DEUXIÈME THÈSE.

Propositions données par la Faculté :

Conditions biologiques de la formation des fruits

Vu, bon à imprimer :
Bordeaux, le 4 janvier 1940.
Le Président,
J. DAGUIN.

Vu et aprouvé :
Bordeaux, le 4 janvier 1940.
Le Doyen,
J. MERCIER.

Vu et permis d'imprimer,
Bordeaux, le 6 janvier 1940.
Le Recteur de l'Académie,
G. BOUSSAGOL.